

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/JP01

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

NAKAO, Shunsuke
3-5, Uchikanda 1-chome
Chiyoda-ku, Tokyo 101-0047
JAPON



Date of mailing (day/month/year) 17 January 2002 (17.01.02)		
Applicant's or agent's file reference F-0279		
IMPORTANT NOTICE		
International application No. PCT/JP01/05944	International filing date (day/month/year) 09 July 2001 (09.07.01)	Priority date (day/month/year) 07 July 2000 (07.07.00)
Applicant NICHIMO CO., LTD. et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has **communicated**, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this notice:
KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
AT,AU,CA,CN,EP,JP

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 17 January 2002 (17.01.02) under No. WO 02/04437

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and the PCT Applicant's Guide, Volume II.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.91.11

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 F-0279	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO1/05944	国際出願日 (日.月.年) 09.07.01	優先日 (日.月.年) 07.07.00
出願人(氏名又は名称) ニチモウ株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
第 1 図とする。 ☒ 出願人が示したとおりである。

☐ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C 0 7 D 3 1 1 / 3 6, A 6 1 K 3 1 / 3 5 2, A 6 1 K 3 5 / 7 8, A 6 1 P 3 / 0 4, A 2 3 L 1 / 3 0

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C 0 7 D 3 1 1 / 3 6, A 6 1 K 3 1 / 3 5 2, A 6 1 K 3 5 / 7 8, A 6 1 P 3 / 0 4, A 2 3 L 1 / 3 0

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	JP 11-228430 A (アサヒビール株式会社) 24. 8月. 1999 (24. 08. 99), 全文 (ファミリーなし)	1, 2 3-7
X Y	EP 829261 A2 (Director General of Shikoku National Agricultural Experiment Station, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries) 18. 3月. 1998 (18. 03. 98), 全文 & JP 10-87486 A, 全文 & US 5776906 A	1, 2, 7 3-6
X A	JP 8-134091 A (三共株式会社) 28. 5月. 1996 (28. 05. 96), 全文 (ファミリーなし)	1, 7 2-6

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

29. 08. 01

国際調査報告の発送日

25.09.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内田 淳子



4 P

2939

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y ✓	JP 11-243928 A (ニチモウ株式会社) 14. 9月. 1999 (14. 09. 99), 全文 (ファミリーなし)	1 - 7
E Y ✓	JP 2000-281673 A (ニチモウ株式会社) 10. 10月. 2000 (10. 10. 00), 全文 (ファミリーなし)	1 - 7

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002 年 1 月 17 日 (17.01.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/04437 A1

(51) 国際特許分類: C07D 311/36, A61K
31/352, 35/78, A61P 3/04, A23L 1/30

(TAKEBE, Minoru) [JP/JP]; 〒140-0002 東京都品川区
東品川2丁目2番20号 ニチモウ株式会社内 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/05944

(74) 代理人: 中尾俊輔, 外(NAKAO, Shunsuke et al.); 〒
101-0047 東京都千代田区内神田1丁目3番5号 Tokyo
(JP).

(22) 国際出願日: 2001 年 7 月 9 日 (09.07.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(81) 指定国 (国内): AT, AU, CA, CN, JP, KR, US.

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2000-207422 2000 年 7 月 7 日 (07.07.2000) JP

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): ニチモ
ウ株式会社 (NICHIMO CO., LTD.) [JP/JP]; 〒140-0002
東京都品川区東品川2丁目2番20号 Tokyo (JP).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

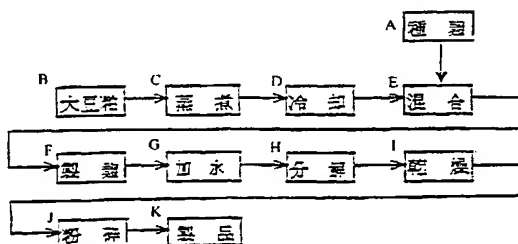
(72) 発明者; および

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 武部 実

(54) Title: OBESITY INHIBITORY MATERIALS

(54) 発明の名称: 肥満抑制素材



A - SEED KOJI
B - SOYBEAN CAKE
C - COOKING
D - COOKING
E - MIXING

F - KOJI-PRODUCTION
G - ADDITION OF WATER
H - DECOMPOSITION
I - DRYING
J - GRINDING
K - PRODUCT

(57) Abstract: Obesity inhibitory materials which are absorbed in the body via oral administration or dripping and affect causes of overeating. Thus, they can regulate food intake and thus promote the metabolism of lipids and inhibit the accumulation of body fat without suppressing immune functions. At the same time, they can inhibit an increase in blood pressure, thereby surely inhibiting body weight gain (obesity). Such obesity inhibitory materials have never been reported hitherto. These obesity inhibitory materials having the above-described excellent effects are largely characterized by containing isoflavone aglycons and/or isoflavone glycosides.

WO 02/04437 A1



(57) 要約:

本発明の肥満抑制素材は、経口摂取や点滴などにより体内に吸収させて、過食の原因に対して作用し、食料の摂取量を抑制させることで免疫系機能を低下させることなく、脂質の代謝を促進し体脂肪の蓄積を抑制することもでき、同時に血圧上昇の抑制もでき、確実に体重増加(肥満)抑制を行なうことのできる肥満抑制素材を得るものである。従来には本発明のような肥満抑制素材は全く無かった。本発明は、イソフラボンアグリコンおよび／またはイソフラボングリコシドを有することにより、前記のような優れた作用を有する肥満抑制素材を得ることを大きな特徴としている。

明 細 書

肥 満 抑 制 素 材

5 技 術 分 野

本発明は、肥満（体重増加）を抑制することのできる肥満抑制素材に係り、特に体内に吸収されることにより体重の増加を抑制したり、食料の摂取量を抑制したり、体内の免疫機能を高めたりして効果的に肥満を抑制することのできる肥満抑制素材に関する。

10

背 景 技 術

肥満は生活習慣病、なかでも高血圧、糖尿病、高脂血症などの発症の原因になっている。また疫学的研究では肥満者が痩せると平均余命が改善されることが報告されている。しかし、肥満者はダイエットなどの方法によ

15 って痩せた状態を維持することが非常に困難なために自分が生活習慣病のリスクが高い状態にあることを認識しているにもかかわらず、痩せられないでいることも事実である。

特に、閉経後の女性は女性ホルモン（エストロゲン）の分泌が低下するためいわゆる更年期の症状が出る。この症状はホットフラッシュに代表さ

20 れる更年期障害以外に、骨代謝、心血管系、脂質代謝、泌尿生殖器系、消化器系、脳神経系など全身の機能系に影響をもたらしているといわれている。従って、こうしたエストロゲン作用の欠落が原因の症状に対して人為的に女性ホルモンを補充するホルモン補充療法（HRT）が治療として検討されている。しかしながら、HRTは子宮出血や乳房緊満感などの副作

用が出やすく問題点も多かった。

女性にとって肥満は美容を損ねるばかりではなく、生活習慣病のリスクが高まる原因になる。更に、閉経後には肥満になりやすくなることが分かっているが、その対処がなされていないのも事実である。肥満は摂食量の増加(過食)による脂肪細胞の形でのエネルギーの貯め込みが進んだためであるから、過食になる原因を明らかにし、過食防止を行なうことが必要といえる。

しかしながら、現在行なわれているダイエット法は強制的に摂食量を抑えたり、過激な運動により溜め込んだエネルギーを発散させる方法が採られている場合が多く、リバウンドにより肥満をさらに増大させることが大きな問題となっている。また、過度の摂食量の抑制は栄養摂取のバランスを狂わせ、免疫系を低下させ、感染症の感染やガンの誘発のリスクを高める危険があり、問題である。

また、脂肪細胞の分解を促進する素材としていくつかの提案がなされているが(特許第2829387号公報および同第2829388号公報並びに特開平11-228430号公報)、これらの提案においては、食糧の摂取量を抑制させることやエストロゲン作用を向上させて脂肪を分解させることが全く開示されていない。更に、これらの報告は細胞レベルの実験に基づく結果の報告であり、動物実験によってその効果を確認したものでもない。

また、Arjmandiら(Bahram H. Arjmandi et al. Nutrition Research Vol. 17, No. 5 pp. 885-894(1997))は、卵巣摘出ラットを使った試験で大豆イソフラボン入り的大豆蛋白質やイプリフラボン添加で血中コレステロール値や体脂肪量を下げることができたと報告しているが、無添加に比べて

その低下の程度は低く、また、体重の明らかな増加抑制は確認できていない。

発 明 の 開 示

5 本発明はこれらの点に鑑みてなされたものであり、経口摂取や点滴などにより体内に吸収させて、過食の原因に対して作用し、食料の摂取量を抑制させることで免疫系機能を低下させることなく、脂質の代謝を促進し体脂肪の蓄積を抑制することもでき、同時に血圧上昇の抑制もでき、確実に体重増加(肥満)抑制を行なうことのできる肥満抑制素材を提供することを
10 目的とする。

 本発明者は鋭意研究し、イソフラボンアグリコンおよびイソフラボングリコシド(イソフラボン化合物)が体内に吸収されることにより、食糧の摂取量を抑制するが、免疫機能を低下させることなく、むしろ高めて、肥満抑制を図ることができることを発見して本発明を完成させた。

15 すなわち、Beatty WWら (Beatty WW, O'Briant DA, Vilberg TR :Pharm a. Biochem., and Behavior., 3: 539, 1975) は更年期モデル動物である
 卵巣摘出ラットを使つての試験で卵巣摘出していないラット (sham) に比べて、卵巣摘出ラットは摂餌量が亢進し、体重が増加すること、また、Yoshidaら (Yoshida, T., Nishioka, H., Yoshioka, K. and Kondo M. : Metabolism, 36: 1, 1987) はエストロゲン投与することで摂餌量が抑制し、
20 体重が減少することを報告している。このことは卵巣摘出ラットではshamラットに比べて、交感神経系の活性化でカテコールアミンの一種であるノルエピネフエリンの分泌量が減らないことで摂餌の誘発が高まった原因の1つではないかと思われる。また、エストロゲンを投与することでノルエピ

ネフィリンの分泌量が減ることが分かっている。このことは卵巢摘出ラットではエストロゲンの内分泌量が減少したために視床下部腹内側核（V M H）でのエストロゲン受容体にエストロゲンの結合が減少するためにノルエピネフィリンが減らないことを示唆している。更には、ノルエピネフィリンを合成する酵素であるチロシン 3 - ヒドロキシラーゼが加齢と共に上昇し、ノルエピネフィリンが上昇したことも考えられる。いずれにしても、閉経後の女性などの肥満の原因となる摂食量の増加を下げて、肥満抑制を図るにはエストロゲンを投与する方法で可能になるが、この方法では副作用が出やすく、安全面で問題であった。

しかしながら、イソフラボンは弱いエストロゲン作用が確認されており、イソフラボンを摂取することでエストロゲン受容体と結合するため、閉経後の女性では内分泌量の減少したエストロゲンに替わってイソフラボンが機能し、V H Mでのノルエピネフィリンを減少させたものと思われる。

更に、シバヤギを用いた実験で発情期での摂食量の低下がエストロゲンによることをAoyamaら (Aoyama, M. et al., (1998), J. Reprod. Dev., 44:141-148.) は報告している。一方、Okamuraら (Okamura, H. et al., (1994), Endocrinology, 135:1705-1708,) はエストロゲンの作用がその特異的な受容体

(E R) を介して発揮されるため、E Rの存在部位がエストロゲンの標的器官と考えた。E Rは子宮や乳腺などの末梢の器官のみならず脳内にも広く分布し、とりわけV H Mには多数存在していて、V H Mは摂食行動の抑制に関与する満腹中枢の1つと考えた。そこでこの神経核内のE Rを持つ神経細胞の大半に一酸化窒素 (N O) の合成酵素が共存し、エストロゲンが直接作用してN Oの産生を大きく高めることを明らかにしている。Morleyら (Morley, J E. et al., (1995), Pharmacol. Biochem. Behav., 50:369-373.) は

NO合成酵素が嫌悪感や発病を誘導させずに摂食抑制させる働きがあることを動物試験で証明している。更に、Aoyamaら(Aoyama, M. et al., (1998), J. Reprod. Dev., 44:149-159)はVHMのERとNOに的を絞り、エストロゲンの摂食行動抑制に関する作用機構を検討し、血中のエストロゲン濃度
5 が高まってもNOの合成が阻害されると摂食量の低下が見られなかったことからER-NO系が何らかの役割を果たしている可能性が大きいとした。そこで、本発明においては、エストロゲン作用が確認されているイソフラボンがNOと作用して、VHMでの肥満中枢を正常に作用させているものと考えられる。

10 更に、VMHにおいては、セロトニンが増えると食欲を抑えることが知られており、このセロトニンはトリプトファンを摂ると活性化されることも知られているが、イソフラボンアグリコンが機能して、トリプトファンを体内で取り込みやすいように作用しているものと考えられる。

しかしながら、肥満予防の観点からイソフラボンを投与することにより
15 肥満の抑制を図ることについては今まで検討されていなかった。本発明者らはイソフラボンを卵巣摘出ラットに投与し、摂餌量が抑制できること、それに伴い、体重増加抑制が生じることを発見し、本発明を完成させた。更に、本発明者らはイソフラボンを雄性の脳卒中易発症ラット(SHRSP)に投与し、体重増加や血圧上昇の抑制ができることを発見し、本発明
20 を完成させた。これらのことにより、イソフラボンは女性ばかりではなく、男性であっても、NOを産生し、血圧の上昇の抑制ばかりではなく、脂質の代謝促進等に働き、体重増加抑制効果を持つことがわかった。また、このことは中枢神経や血管内皮には男女に関係なくエストロゲン受容体(ER)が存在し、イソフラボンがそのERに作用したものであるということができ

た。

このようにしてなされた本発明の肥満抑制素材は、イソフラボンアグリコンおよび／またはイソフラボングリコシドを有することを特徴とする。

本発明のようにイソフラボンアグリコンやイソフラボングリコシドを有
5 する肥満抑制素材を体内に吸収させると、食糧の摂取量を抑制するが、免疫機能を低下させることなく、むしろ高めて、体重増加を抑制して、確実に肥満の抑制を図ることができる。

これらのイソフラボンアグリコンおよびイソフラボングリコシドは穀物由来の素材とするとよい。また、穀物由来の素材としては特に豆類がよく、
10 イソフラボンアグリコンとしては豆類を麹菌によって発酵させて、麹菌の酵素で豆類の成分を加水分解させることにより生成するとよい。更に、こうして得られたイソフラボンアグリコンやイソフラボングリコシドは溶媒で抽出濃縮することにより生成するとよい。この場合のイソフラボンアグリコンは、少なくとも70重量%のダイゼインを含有するようにするとよい。
15 い。

また、本発明の肥満抑制素材を経口補助剤状に形成して、経口摂取を容易とするとともに、消化器官によって確実に吸収されるようにするとよい。

図面の簡単な説明

20 図1は本発明の肥満抑制素材を生成する工程図、

図2は本発明の肥満抑制素材を摂取したラット等の摂餌量の変化を示す線図、

図3は本発明の肥満抑制素材を摂取したラット等の体重の変化を示す線図、

図 4 は本発明の肥満抑制素材を摂取したラット等の体重の変化を示す線図、

図 5 は本発明の肥満抑制素材を摂取したラット等の放射線照射後の脾臓の重量変化を示す線図、

- 5 図 6 は本発明の肥満抑制素材を摂取したラット等の 100 g 体重当たりの放射線照射後の脾臓の重量変化を示す線図、

図 7 は本発明の肥満抑制素材を摂取したラット等の放射線照射後で骨髓移植後の脾臓コロニー形成数を示す線図、

- 10 図 8 は本発明の肥満抑制素材を摂取した SHRSP ラットの体重の変化を示す線図、

図 9 は本発明の肥満抑制素材を摂取した SHRSP ラットの摂餌量の変化を示す線図、

図 10 は本発明の肥満抑制素材を摂取した SHRSP ラットの収縮期血圧の変化を示す線図、

- 15 図 11 は本発明の肥満抑制素材を摂取した SHRSP ラットの尿中の NO_2/NO_3 の変化を示す線図、

図 12 は本発明の肥満抑制素材を摂取した SHRSP ラットの尿中カテコールアミンのアドレナリンの変化を示す線図、

- 20 図 13 は本発明の肥満抑制素材を摂取した SHRSP ラットの尿中カテコールアミンのノルアドレナリンの変化を示す線図、

図 14 は本発明の肥満抑制素材を摂取した SHRSP ラットの尿中カテコールアミンのドーパミンの変化を示す線図、

図 15 は本発明の肥満抑制素材を摂取した SHRSP ラットの血清総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロールおよび

コレステロールエステル比の変化を示す線図、

図 1 6 は本発明の肥満抑制素材を摂取した S H R S P ラットの血清トリグリセライドの変化を示す線図、

図 1 7 は本発明の肥満抑制素材を摂取した S H R S P ラットの遊離脂肪酸
5 酸の変化を示す線図、

図 1 8 は本発明の肥満抑制素材を摂取した S H R S P ラットの内蔵脂肪の変化を示す線図である。

発明を実施するための最良の形態

10 以下、本発明の実施の形態を説明する。

本発明の肥満抑制素材は、イソフラボンアグリコンおよび／またはイソフラボングリコシドを有することを特徴とする。具体的には、イソフラボンアグリコン単体（純粋物）およびイソフラボングリコシド単体（純粋物）
15 や、これらの少なくとも一方を含有している固体状（粉体、粒体等のあらゆる状態を含む）若しくは液体状の食料や薬である。

これらのイソフラボンアグリコンおよびイソフラボングリコシドとしては、どのような原料から得られたものでもよいが、穀類を原料として得た穀物由来の素材とするとよい。また、穀類由来の素材としては、特に豆類を麹菌によって発酵させ、その後に加水分解することにより麹菌の酵素で
20 豆類の成分を分解させて生成するとよい。更に、イソフラボンアグリコンとしては前記のようにして加水分解することにより生成された素材を、更に溶媒によって抽出濃縮することにより生成するとよい。

このように形成されている本発明のイソフラボンアグリコンやイソフラボングリコシドを有する肥満抑制素材を所定期間に亘って経口投与や点滴

によって継続的に体内に吸収させると、食糧の摂取量を抑制させる一方で、免疫機能を低下させることなく、むしろ高めて、体重増加を抑制して、確実に肥満の抑制を図ることができる。

- 次に、イソフラボンアグリコンおよびイソフラボングリコシドを有する
- 5 本発明の肥満抑制素材を麹菌を用いて発酵させて生成する場合について図 1 により説明する。

図 1 は本発明の肥満抑制素材を穀類の 1 種である豆類であってその中の 1 種である大豆粕から生成する製造方法の 1 例を示している。

- この図 1 に示す工程に沿って本発明の肥満抑制素材を製造する場合を説明
- 10 明すると、まず、大豆粕を蒸煮する。この蒸煮を施すことにより、蒸煮を行わない場合に比較して麹菌の増殖が容易となる。また、この大豆粕の蒸煮は製造目的等に応じて蒸煮とその後の製麹処理とを別個に行なうバッチ式や、蒸煮とその後の製麹処理とを連続して行なうことのできる製麹装置によって連続式で行うようにするとよい。

- 15 そして、この蒸煮が終了した大豆粕を一旦冷却して、大豆粕中の水分量を麹菌が増殖可能な量（例えば、約 36 重量％）とさせる。

このようにして水分量を整えられた大豆粕に対して、本発明に従って肥満抑制素材が以下のようにして製造される。

- 即ち、蒸煮が終了した大豆粕単体を冷却して麹菌が死滅しない温度以下
- 20 の 40℃以下になった時に、麹菌からなる種麹を所定重量比だけ接種し、両者が均一となるまで混合する。

その後、接種した種麹の増殖作用により混合物の温度を上げるために混合物を製麹装置内で品温を一旦低下させて約 32℃程度にコントロールしながら放置すると大豆粕が麹菌によって発酵させられて、即ち製麹処理が

進行して約 38℃ 程度まで昇温するとともに、増殖する麹菌の菌糸の成長に伴って生成物が締まって固まって来る。その後、製麹が進行して製麹装置内において固まって来る生成物を回転攪拌してほぐすとともに、通気を行って内部に均一に空気を供給し、品温を約 33～35℃ 程度まで下げる
5 ようにコントロールし、更に通気を継続しながら製麹処理を進行させる。これにより発菌が死滅することを確実に防止して、麹菌の増殖を十分に行わせることができる。その後、製麹装置内の生成物の固まり具合に応じて必要回数の回転攪拌を施すとともに、通気を継続する。

この製麹に用いる麹菌としては、古くからの日本独特の発酵食品やテン
10 ペに用いられている麹菌であり、食品として安全なアスペルギルス・ウサミ、アスペルギルス・カワチ、アスペルギルス・アワモリ、アスペルギルス・サイトイ、アスペルギルス・オリゼー、アスペルギルス・ニガー等のアスペルギルス属およびリゾプス属の麹菌を用いるとよい。

この発酵時間については、使用する麹菌の種類に応じて、少なくとも 2
15 4 時間以上であり、麹菌が十分に増殖して大豆粕中の蛋白質および／または糖質を所定量分解させるに十分な発酵時間とするとよい。

本実施形態においては、製麹処理による生成物に対して蛋白質およびまたは糖質の加水分解を更に行なうものである。ここで糖質とは少糖類等の糖類や澱粉等を含むものである。

20 この製麹処理後の加水分解も基質をフレーク状態に保持したまま行なわれる。すなわち、本実施形態においては、製麹終了後の生成物に、例えば 50 重量%の水分量となるように加水してから 30～45℃ に加温し、保温しながら所定時間保持して製麹処理による生成物内の蛋白質およびまたは糖質の加水分解が施される。このようにして蛋白質およびまたは糖質の

加水分解が行われることにより、肥満抑制機能を有しているイソフラボンアグリコンおよびイソフラボングリコシドが多量に生成される。

次に、本発明の肥満抑制素材について具体例をもって説明する。

前記のようにして麹菌としてアスペルギルス・オリゼーを用いて本発明
 5 によって生成した肥満抑制素材となる発酵大豆粕はイソフラボン化合物が良好に分解されたものとなる。即ち、未処理大豆粕においては、グリコシドであるダイジンおよびゲニスチンがアグリコンであるダイゼインおよびゲニステインに比較して極めて多いのに、本発明によって生成された発酵大豆粕においては、グリコシドであるダイジンおよびゲニスチンが分解さ
 10 れて極めて少なくなり、分解によって生成されたアグリコンであるダイゼインおよびゲニステインが極めて多くなる。即ち、無処理の大豆粕に対して品温が35℃になるように通風しながら、調節し、48時間の製麹を施し、水分含量が約50%となるように加水し、45℃で24時間以上に亘って麹菌の酵素で大豆の成分や麹菌の成分を加水分解を施してなる大豆粕
 15 中のイソフラボン化合物の含有量は表1の通りとなり、イソフラボン化合物のアグリコン体であるダイゼインやゲニステインが多量に得られることが分かる。

【表1】

20

ダイジン	ダイゼイン	ゲニスチン	ゲニステイン
検出せず	70	103	64

(単位:mg/100g)

また、大豆胚芽について説明すると、予め大豆胚芽を蒸煮後に水分含量が約37%となるように加水した後、蒸煮し、殺菌し、冷却した後、大豆

胚芽と麹菌との配合割合は、大豆胚芽を 400 kg に対して麹菌胞子を 8×10^7 個/g に調整した種麹（精白米にて調整）を 200 g を混合した。更に、製麹のスタート時には 32℃ に冷却した後、品温が 40℃ になるまで通風しないで 40℃ になった時点で通風しながら、温度上昇を抑えた。

- 5 スタートから約 17 時間後の最初の攪拌（盛工程）を行った。大豆胚芽の熱を冷まし、攪拌後品温が 35℃ 前後になるように通風しながら、温度をコントロールをした。次いで約 8 時間後に 2 回目の攪拌（仲工程）を行い、熱を冷ました。再び品温を通風で 35℃ 前後にコントロールし、さらに約 16 時間後に 3 回目の攪拌（仕舞工程）を前回同様に行った。その後は品温が約 38℃ になるように通風しながら、温度コントロールし、スタートから 48 時間後に製麹を終了させた。製麹終了後、水分含量が 50% になるように攪拌しながら、水分調整を行い、品温が約 50℃ になるように加温後、48 時間以上麹菌の酵素で大豆胚芽中のイソフラボン化合物の大部分がアグリコン体になるまで加水分解した。表 2 の通り本発明による処理により大豆胚芽のイソフラボン化合物はアグリコン体のダイゼインが主体に多量得られた。

【表 2】

単位：mg / 100 g

成分		本 発 明	未 処 理
グリコシド	ダイジン	70	840
	ゲニスチン	40	170
	グリシチン	130	620
	計	240	1630
アグリコン	ダイゼイン	680	10
	ゲニステイン	130	2.4
	グリシテイン	240	2.0
	計	1050	14.4

また、本実施形態においては加水分解によって得られた生成物を溶媒を用いて更に抽出濃縮することにより表3のようなイソフラボンアグリコンが30重量%以上の濃縮物を得るとよい。

【表3】

5

本発明素材の濃縮物の組成

10

分 析 項 目	規 格 値	分 析 値
性 状	淡褐色の粉末で、異味、異臭、異物がないこと	適 合
乾 燥 減 量	5 % 以 下	2. 8 %
強 熱 残 分	3 % 以 下	0. 1 %
ヒ 素	2 p p m 以 下	適 合
重 金 属	2 0 p p m 以 下	適 合
残 留 農 薬	検 出 せ ず	検 出 せ ず
一 般 生 菌 数	3 0 0 0 個 / g 以 下	3 0 0 0 個 / g 以 下
大 腸 菌 群	陰 性	陰 性
イソフラボンアグリコン量	3 0 % 以 上	3 2. 9 %
ダ イ ゼ イ ン		2 3. 4 %
グ リ シ テ イ ン		8. 0 %
ゲ ニ ス テ イ ン		1. 5 %

15 次に、本発明の実施例を説明する。

実施例1

本実施例においては、太りやすい体質に対して実験を行うために、卵巣を摘出したラットに対して実験を施した。試験にはSDラットを供した。

a) 試験方法

20

1) 卵巣摘出の有無による差をも判定するために、卵巣摘出ラット（9週齢）と卵巣を摘出しない偽手術を施した偽手術ラット（9週齢）を用意し、1週間以上の馴化飼育を行い、健康で各区で体重も揃った検体となる雌のラットを育成した。この育成に際しては、表4に示す組成の餌を用いることにより、餌の組成による肥満抑制の影響を排除するようにした。即

ち、この餌の蛋白質源は動物性蛋白質のカゼインであり、このカゼインは肥満になりやすい蛋白質であるといわれており、この蛋白質を用いることによって餌の組成による肥満抑制の影響を排除した。

【表 4】

5

10

餌の組成	g/100g
カゼイン	22.70
シュークロース	41.76
コーンスターチ	20.00
セルロース	5.60
コーン油	5.70
ビタミンミックス	1.00
ビタミン D3	0.00016
ミネラルミックス	1.34
炭酸カルシウム	0.988
リン酸ナトリウム	0.388
リン酸カリウム	0.238
クエン酸カリウム	0.090

15 2) ラットへの投与物として、日本薬局方カルメロースナトリウムを日本薬局方注射用水に溶解させて 0.5 重量%の濃度に調製した媒体と、この媒体に対してイソフラボンアグリコンの 2 種類の濃縮素材並びにイソフラボングリコシドを混合した既定濃度の懸濁液を用意した。

20 3) 比較区 1 に偽手術ラットを 8 匹、比較区 2 並びに試験区 1、2 および 3 とにそれぞれ卵巣摘出ラットを 8 匹ずつ分け、各区の各ラットに対して最近時の体重に対する割合を 10 ml / kg として表 5 に示す投与物を胃ゾンデを用いて 1 日 1 回強制経口投与した。試験区 1、2 および 3 には、投与するイソフラボンアグリコンおよびイソフラボングリコシドの量が同表 5 の投与量となるように調整した。

【表 5】

投 与 区 分		投 与 物	投与量(mg/kg)	動物数
比較区 1	偽手術	媒 体	—	8
比較区 2	卵巣摘出	媒 体	—	8
試験区 1	卵巣摘出	媒 体 + 濃 縮 素 材	200	8
試験区 2	卵巣摘出	媒 体 + 濃 縮 素 材	50	8
試験区 3	卵巣摘出	媒体+イソフラボングリコシド	80	8

10 4) 摂餌量 (食料の摂取量)

全ラットについて、週 1 回、2 日間の摂餌量を測定し、1 日平均摂餌量を算出した。

5) 体重の測定

全ラットの体重を、投与開始日と、その後週 1 回測定した。

15 6) 傍子宮脂肪組織の重量の測定

全ラットの傍子宮脂肪組織の重量を、脂肪組織 (g) および脂肪組織 (g%) について実験終了時に測定した。

7) データの統計学的処理

各区の定量データについて Bartlett 法による等分散性の検定
 20 を行い、等分散の場合には 1 元配置法による分散分析を行い、有意ならば
 対照群との群間比較は Dunnett 法により行う。一方、等分散でない
 場合には Kruskal-Wallis の検定を行い、有意ならば対照群と
 の群間比較は順位を利用した Dunnett 法により行う。なお、検定は
 両側検定とし、有意水準は 5 および 1 % とする。

b) 試験結果

- 1) 摂餌量の測定結果は表 6 および図 2 に示す通りである。
- 2) 体重の測定結果は表 7 および図 3 に示す通りである。

【表 6】摂餌量

投与区 動物数	比較区 1 10	比較区 2 10	試験区 1 10	試験区 2 10	試験区 3 10
日 数 7	17.8 ± 1.4 ^{tt}	21.0 ± 3.0	13.2 ± 6.3 ^{**}	13.4 ± 5.6 ^{**}	17.5 ± 2.9
14	16.0 ± 1.6 ^{tt}	19.8 ± 2.7	16.1 ± 4.7	11.2 ± 3.0 ^{**} (9)	17.2 ± 3.6
21	15.3 ± 1.4 ^{tt}	1.8 ± 2.9	15.5 ± 3.8	13.0 ± 1.7 ^{**} (9)	16.8 ± 2.6
28	14.7 ± 1.9 ^{tt}	17.6 ± 1.7	15.4 ± 1.2 ^{**}	12.6 ± 1.1 ^{**} (9)	17.1 ± 1.7
35	14.0 ± 1.1 ^{tt}	15.9 ± 1.4	12.8 ± 2.6 [*]	11.9 ± 2.8 ^{**} (9)	15.8 ± 2.1

() : 動物数

^{tt} : 比較区 1 と比較区 2 との間に、限度 0.05 以下と 0.01 以下においてそれぞれ有意差があった。

*, ** : 比較区 2 と各試験区との間に、限度 0.05 以下と 0.01 以下においてそれぞれ有意差があった。

【表 7】体重

投与区 動物数	比較区 1 10	比較区 2 10	試験区 1 10	試験区 2 10	試験区 3 10
日 数 1	209.8 ± 7.2 ^{tt}	235.2 ± 7.5	236.8 ± 7.3	235.9 ± 7.0	235.8 ± 8.2
8	222.1 ± 7.6 ^{tt}	264.4 ± 11.6	227.0 ± 13.9 ^{**}	210.2 ± 22.9 ^{**}	243.9 ± 19.0 [*]
15	231.7 ± 9.6 ^{tt}	285.0 ± 15.8	240.0 ± 7.5 ^{**}	221.1 ± 14.3 ^{**} (9)	258.8 ± 16.1 ^{**}
22	241.6 ± 11.7 ^{tt}	299.2 ± 18.0	247.6 ± 10.6 ^{**}	229.8 ± 12.3 ^{**} (9)	270.5 ± 16.7 ^{**}
29	250.0 ± 12.7 ^{tt}	312.6 ± 18.3	259.2 ± 11.0 ^{**}	237.2 ± 14.6 ^{**} (9)	284.2 ± 19.9 ^{**}
35	253.5 ± 10.8 ^{tt}	321.1 ± 18.1	264.7 ± 14.5 ^{**}	241.8 ± 14.0 ^{**} (9)	291.7 ± 21.4 ^{**}

() : 動物数

^{tt} : 比較区 1 と比較区 2 との間に、限度 0.01 以下において有意差があった。

*, ** : 比較区 2 と各試験区との間に、限度 0.05 以下と 0.01 以下において有意差があった。

3) 傍子宮脂肪組織の重量の測定は表 8 に示す通りである。

【表 8】

傍子宮脂肪組織の重量

	比較区 1	比較区 2	試験区 1	試験区 2	試験区 3
脂肪組織 (g)	4.82±1.56	6.70±1.65	3.31±1.24**	1.80±0.61**	4.14±0.84*
脂肪組織 (g%)	1.98±0.58	2.17±0.42	1.31±0.46**	0.78±0.24**	1.50±0.31**

c) 評価

表 6 よび図 2 に示す摂餌量の変化により、本発明の肥満抑制素材の保有する肥満抑制機能が良好に作用して、ラットの摂餌量の増加が低く抑えられて、肥満の進行が抑制されたことがわかる。

- 5 即ち、卵巢摘出ラット（比較区 2）において摂餌量が多いが、イソフラボンアグリコン 200 mg/kg 体重投与（試験区 1）およびイソフラボンアグリコン 50 mg/kg 体重投与（試験区 2）では比較区 2 に比べて有意的に摂餌量が低く抑えられており、さらに試験区 1 では偽手術ラット（比較区 1）の摂餌量よりも低くなったことはイソフラボンアグリコンの
- 10 投与量は用量依存的に摂餌量を低く抑える作用があることが示唆できる。イソフラボンアグリコン 80 mg/kg 体重投与（試験区 3）では比較区 2 に比べて有意的ではないが、摂餌量が低く抑えられることがわかった。このことから、摂餌量を下げる作用はイソフラボンアグリコンの方が優れていることが示唆できた。
- 15 更に説明すると、卵巢摘出ラットは更年期女性のモデル動物である。更年期症状は閉経に伴ってあらわれ、このことはエストロゲンの分泌量の低下が原因である。そのことにより摂食量の増加が起こる。本実施例で試験区 1、2 および 3 に示すようにイソフラボンの濃縮素材、とりわけ、イソフラボンアグリコンの濃縮素材を投与した場合に更年期女性のモデル動物
- 20 の摂餌量の有意的な低下が確認された。したがって、本発明の肥満抑制素材の肥満抑制機能が良好に発揮されて摂餌量が低く抑えられたことに他ならない。

表 7 よび図 3 の体重の変化に示すように、すでに説明した摂餌量の低下と相関して体重増加が抑制された。このことは本発明の肥満抑制素材を投

与することによって摂餌量が低く抑えられたために体重の増加が抑制されたといえる。イソフラボングリコシド、イソフラボンアグリコン共に体重増加の抑制が確認できたが、その傾向はイソフラボンアグリコンで高く、しかも用量が多いほど高まった。このことはイソフラボンアグリコンが体内への吸収性が優れていることに他ならない。

比較区 1 は偽手術ラットであり、エストロゲンの分泌が低下していないラットであり、肥満しない。しかし、比較区 2 は卵巢摘出ラットであり、エストロゲンの分泌が低下しているラットであり、摂餌量が増加し、肥満傾向にある。従って、比較区 2 に比べて本発明の肥満抑制素材を投与することで体重増加がしたかどうかをチェックすることができる。また、偽手術ラット（比較区 1）を正常体重ラットと評価すると、偽手術ラット（比較区 1）の体重と同じになることが望ましいと思われる。それより低くなることはむしろ痩せる傾向と見ることもできる。この観点から評価すると試験区 1、2、3 共に比較区 2 に比べて体重増加は抑えられていた。更に詳しく説明すると試験区 1 は偽手術ラット（比較区 1）とほぼ同じ体重変化で推移したといえる。試験区 2 は偽手術ラット（比較区 1）よりもさらに体重増加が抑えられていた。このことから本発明の肥満抑制素材、とりわけ、イソフラボンアグリコン濃縮品は投与量を加減することで肥満抑制を高めることが可能であることを示唆できた。

表 8 の測定結果は、各区のラットの体脂肪の蓄積状況を示すものである。肥満に伴い体脂肪が蓄積されることは周知である。脂肪の主成分は中性脂肪であり、測定した傍子宮脂肪組織重量の変化はラット全身の中性脂肪含量の変化に対応するといわれている（Rizack M.A.: J. Bio. Chem. 236:657 (1961)）。従って、表 8 の結果からは、試験区 1、2 および 3 で体内に中

性脂肪の蓄積が少ないことが明らかとなった。その程度は偽手術ラット（比較区 1）よりも低く、本発明の肥満抑制素材を摂取することによって効率的に中性脂肪の蓄積を抑制することがあきらになった。

実施例 2

- 5 本実施例においては、肥満抑制と体内の免疫機能との関係について実験を行うために、放射線の照射と骨髄移植を伴うマウス脾コロニー法をラットに施した。

a) 試験方法

- 1) 健康で各区で体重も揃った検体となる雌のラット（雌 I C R）（8
10 週齢）を育成した。

2) ラットへの投与物として、普通食と、この普通食に対してイソフラボンアグリコンの濃縮素材並びにイソフラボングリコシドを混合した餌を用意した。

- 3) 比較区 1 および 2 と試験区にラットを 5 匹ずつ分け、表 9 に示すよ
15 うに、比較区 1 および 2 に普通食を投与し、試験区には体重に対するイソフラボンアグリコンの割合を $30 \text{ mg} / \text{kg}$ となるように普通食に添加し、各々を 3 週間飼育した。

5

10

15

20

【表9】

比較区1	投 与 区 分		投 与 物	投 与 量 (mg/kg)	動物数
	非照射	骨髄移植			
比較区2	放射線照射	骨髄移植	普通食	—	5
試験区1	放射線照射	骨髄移植	普通食 + 濃縮素材 (0.1%)	イソフラボンアグリコン 30mg/kg	5

4) 放射線照射

3週間の飼育後に、比較区2および試験区のラットに対して、8 Gyの照射量を1回のみ全身照射した。

5) 骨髓移植

- 5 放射線照射から24時間経過後に、全区のラットに対して骨髓移植を施した。この場合、ドナーは同系のラットの大腿骨を切り離し、クリーンベンチで大腿骨の両端を短く切り捨て、その一端から10% Antibiotic-Antimycotic を含有 RPMI Medium 1640 培地 1 ml の注射器で培地を一度に骨髓腔中を通して、試験官中に押し出す。骨髓細胞数は $10^5/\text{ml}$ に調整し、
- 10 0.5 ml を尾静脈より注射した。ドナーラットは2 Gy 放射線で全身照射し、普通食で4週間飼育したものである。

6) 体重の測定

全ラットの体重を、骨髓移植前と移植後7日目に測定した。

7) 脾臓の測定

- 15 骨髓移植後7日目の体重測定後に、全ラットを屠殺し、脾臓を摘出し、脾臓の重量および脾コロニー形成数を測定した。

b) 試験結果

- 1) 体重の測定結果は図4に示す通りである。
- 2) 放射線照射後の脾臓の重量変化は図5に示す通りであり、100 g
- 20 体重当たりの放射線照射後の脾臓の重量変化は図6に示す通りであり、放射線照射後で骨髓移植後の脾臓コロニー形成数は図7に示す通りである。

c) 評価

図4に示す体重の変化より、試験区の本発明のイソフラボンアグリコンを接種したラットは、放射線照射前においても体重の増加が他の区に比較

して大きく抑えられており、更に放射線照射後においては体重の増加が他の区に比較してより一層大きく抑えられている。

このように図 4 に示す体重の変化により、本発明の肥満抑制素材の保有する肥満抑制機能が良好に作用して、肥満の進行が抑制されたことがわかる。
5

図 5 から図 7 に示す脾臓に関する試験結果より、比較区 1 の放射線照射を受けていないラットに比較して他の比較区 2 並びに試験区をみると、本発明の肥満抑制素材を摂取してない比較区 2 は脾臓の重量の増加が少なく、更に脾臓コロニーの形成数も低いので、体内免疫性が低下させられているのに対し、本発明の肥満抑制素材を摂取している試験区は、脾臓の重量の増加が多く、更に脾臓コロニーの形成数も高いので、体内免疫性が大きく向上させられていることがわかる。
10

即ち、本発明のようにイソフラボンアグリコンを有する肥満抑制素材を体内に吸収させると、食糧の摂取量を抑制し、体重増加を抑制して、確実に肥満の抑制を図ることができた。しかしながら、免疫機能低下はみられない。むしろ、イソフラボンアグリコンを添加しない区（比較区 2）よりも免疫機能は向上した。
15

実施例 3

本実施例においては、雄に対して実験を行うために、雄性の脳卒中易発症ラット (SHRSP) に対して実験を施した。
20

a) 試験方法

1) SHRSP ラット (5 週齢) を用意し、1 週間の予備飼育を行い、健康で各区で体重も揃った検体となる SHRSP ラット (6 週齢) を育成した。予備飼育の翌日より 28 日間に亘り、表 10 に示す組成の高脂肪飼

料を自由摂取として育生した。給水としては、井水（3 p p m塩素添加）を自由摂取させた。更に、飼育施設環境として、設定温湿度を $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、 $55 \pm 10\%$ とし、空調方式を換気（15回／1時間）とし、証明時間を 8:00 a. m. ～ 8:00 p. m. とし、飼育設備をステルス製代謝ケージとした。

【表 10】

10	高脂肪飼料の配合組成	重量%
	ラード	25.0
	コーンオイル	11.0
	ミルクカゼイン	24.0
	コーンスターチ	15.5
	グラニュー糖	10.0
	アビセル（結晶セルロース）	3.0
	KCフロック（セルロースパウダー）	2.0
	オカノール（アルファ化デンプン）	1.0
	ビタミンミックス（CLEA精製用）	1.0
	ミネラルミックス（CLEA精製用）	7.0

15 2) イソフラボンアグリコンの投与

比較区並びに試験区 1 および 2 とにそれぞれ SHRS P ラットを 6 匹づつ分け、各区の各 SHRS P ラットに対して 5 重量%アラビアゴムの溶媒とイソフラボンアグリコンとを表 11 示す投与量となるようにして胃ゾンデを用いて 1 日 1 回強制経口投与した。

20 【表 11】

投与区分	投与物	投与量 (mg/kg)
比較区	溶媒	—
試験区 1	溶媒+イソフラボンアグリコン	20
試験区 2	溶媒+イソフラボンアグリコン	40

3) 体重の測定

全SHRSPラットの体重を、投与開始前日と、投与期間中毎日1回測定した。

4) 摂餌量（食料の摂取量）

5 全SHRSPラットの摂餌量を、投与開始前日と、投与期間中毎日1回測定した。

5) 血圧測定

高脂肪飼料およびイソフラボンアグリコンの投与期間中、0、7、14、21、28日目に血圧測定を行った。血圧測定はSHRSPラットを
10 ホルダーに固定し、 $38 \pm 1^{\circ}\text{C}$ に保温した状態でtail cuff 法により非観血式血圧測定装置を用いて尾動脈収縮期血圧を測定する。

6) 採尿、採血、各測定項目の測定

高脂肪飼料およびイソフラボンアグリコンの投与期間中、0、14、28日目に24時間の蓄尿による採尿を行った。そして、尿中の NO_2/NO_3 および尿中カテコールアミン（アドレナリン、ノルアドレナリンおよびドーパミン）を各々Griess法およびHPLCにより測定を行った。
28日日間の投与終了後、24時間の絶食を行い、エーテル麻酔下で解剖を行い、腹部大動脈から採血を行い、血清総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、コレステロールエステル比、トリグリセライドおよび遊離脂肪酸を酵素法にて測定した。更に、解剖した
20 SHRSPラットより体内脂肪を検出するために後腹壁脂肪、腸間膜脂肪、腎周囲脂肪および副睾丸周囲脂肪を摘出して体重100g当たりの重量を測定した。

7) データの統計学的処理

各区の測定結果は各測定項目毎に平均値±標準偏差で表し、有意差検定はStudent's-t法を用いた。なお、検定は両側検定とし、有意水準は5および1%とする。

b) 試験結果

5

1) 状態観察

試験期間中の一般状態観察については特に異常は観察されなかった。

(以下、本頁余白)

10

15

20

2) 体重の測定結果は表 1 2 および図 8 に示す通りである。

【表 1 2】

体重の推移

(g)		(日)			
		0	1	2	3
5	対照群 (n=6)	123.2 ± 11.30	134.0 ± 11.92	146.8 ± 13.35	162.0 ± 17.35
	20mg/kg群 (n=6)	124.4 ± 8.08	129.0 ± 8.60	139.7 ± 7.06	150.0 ± 7.25
	40mg/kg群 (n=6)	124.6 ± 9.25	129.3 ± 9.49	136.6 ± 9.40	140.0 ± 9.48 *
		4	5	6	7
10	対照群 (n=6)	175.4 ± 19.41	189.5 ± 22.40	203.3 ± 24.25	216.6 ± 26.49
	20mg/kg群 (n=6)	161.6 ± 7.11	172.4 ± 7.91	182.6 ± 11.80	192.6 ± 14.26
	40mg/kg群 (n=6)	149.5 ± 12.92 *	160.1 ± 14.57 *	173.2 ± 13.69 *	186.3 ± 13.52 *
		8	9	10	11
15	対照群 (n=6)	227.6 ± 25.98	239.1 ± 23.93	247.4 ± 23.12	257.8 ± 22.08
	20mg/kg群 (n=6)	205.2 ± 15.42	216.8 ± 15.53	229.0 ± 16.47	241.2 ± 14.87
	40mg/kg群 (n=6)	199.0 ± 14.47 *	210.5 ± 14.14 *	221.0 ± 13.84 *	230.0 ± 10.86 *
		12	13	14	15
20	対照群 (n=6)	268.7 ± 21.05	274.0 ± 15.93	283.5 ± 14.97	293.0 ± 13.74
	20mg/kg群 (n=6)	248.7 ± 15.32	259.5 ± 15.38	271.3 ± 13.80	279.7 ± 12.54
	40mg/kg群 (n=6)	239.8 ± 10.74 *	249.9 ± 10.23 *	260.4 ± 10.50 *	273.2 ± 7.86 *
		16	17	18	19
25	対照群 (n=6)	302.0 ± 12.91	311.0 ± 12.68	314.5 ± 12.54	317.9 ± 12.50
	20mg/kg群 (n=6)	286.1 ± 12.37	293.7 ± 14.02 *	296.8 ± 14.27 *	300.9 ± 14.74
	40mg/kg群 (n=6)	280.5 ± 9.03 **	290.3 ± 7.58 **	293.8 ± 7.54 **	296.2 ± 6.97 **
		20	21	22	23
30	対照群 (n=6)	320.2 ± 14.07	322.6 ± 17.61	325.9 ± 13.54	328.8 ± 13.63
	20mg/kg群 (n=6)	304.5 ± 14.71	308.2 ± 14.99	311.8 ± 14.85	314.1 ± 14.75
	40mg/kg群 (n=6)	299.3 ± 6.62 *	302.6 ± 6.61 *	305.9 ± 6.42 *	307.8 ± 5.76 *
		24	25	26	27
35	対照群 (n=6)	331.5 ± 13.91	332.7 ± 14.67	335.9 ± 14.51	339.3 ± 14.56
	20mg/kg群 (n=6)	316.1 ± 14.35	317.2 ± 15.05	320.0 ± 15.07	321.5 ± 15.76
	40mg/kg群 (n=6)	310.4 ± 5.88 *	312.9 ± 5.38 *	315.3 ± 5.73 *	315.5 ± 6.00 **
		28			
40	対照群 (n=6)	340.7 ± 16.07			
	20mg/kg群 (n=6)	322.1 ± 17.12			
	40mg/kg群 (n=6)	317.0 ± 5.99 *			

(平均値±標準偏差; 対照群に対する有意差検定 *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$)

3) 摂餌量の測定結果は表 1 3 および図 9 に示す通りである。

【表 1 3】

摂餌量の推移

(g)					
(日)		0	1	2	3
対照群 (n=6)		16.83 ± 2.79	17.00 ± 2.97	17.50 ± 2.59	18.00 ± 3.29
20mg/kg群 (n=6)		15.67 ± 3.01	15.67 ± 3.01	15.83 ± 3.25	16.17 ± 3.06
40mg/kg群 (n=6)		16.17 ± 3.19	16.33 ± 3.27	16.33 ± 3.27	16.67 ± 3.27
(日)		4	5	6	7
対照群 (n=6)		18.50 ± 3.27	18.50 ± 2.59	18.83 ± 2.71	18.83 ± 2.71
20mg/kg群 (n=6)		16.50 ± 3.15	17.00 ± 3.16	17.17 ± 3.06	17.67 ± 3.01
40mg/kg群 (n=6)		17.00 ± 3.58	17.33 ± 3.72	17.67 ± 3.27	17.67 ± 3.27
(日)		8	9	10	11
対照群 (n=6)		19.33 ± 2.07	19.33 ± 2.07	19.83 ± 2.23	20.33 ± 2.07
20mg/kg群 (n=6)		18.17 ± 3.06	18.33 ± 2.88	18.67 ± 3.01	19.17 ± 3.06
40mg/kg群 (n=6)		18.33 ± 3.61	18.50 ± 3.56	18.67 ± 3.27	19.17 ± 3.66
(日)		12	13	14	15
対照群 (n=6)		20.33 ± 2.07	21.17 ± 1.83	21.17 ± 1.83	21.83 ± 1.83
20mg/kg群 (n=6)		19.33 ± 2.88	19.83 ± 3.25	20.17 ± 3.06	20.50 ± 3.15
40mg/kg群 (n=6)		19.50 ± 3.56	19.67 ± 3.56	20.00 ± 3.46	20.17 ± 3.31
(日)		16	17	18	19
対照群 (n=6)		22.17 ± 1.83	22.50 ± 1.87	22.67 ± 1.63	23.50 ± 1.87
20mg/kg群 (n=6)		20.83 ± 3.25	21.17 ± 3.43	21.50 ± 3.15	21.67 ± 3.39
40mg/kg群 (n=6)		20.67 ± 3.72	20.83 ± 3.76	21.00 ± 3.29	21.50 ± 3.73
(日)		20	21	22	23
対照群 (n=6)		23.50 ± 1.87	23.83 ± 2.32	24.33 ± 1.86	24.83 ± 2.32
20mg/kg群 (n=6)		22.17 ± 3.43	22.17 ± 3.43	22.67 ± 3.44	22.67 ± 3.08
40mg/kg群 (n=6)		21.67 ± 3.61	21.83 ± 3.60	22.17 ± 3.49	22.33 ± 3.39
(日)		24	25	26	27
対照群 (n=6)		24.83 ± 2.32	25.50 ± 2.35	25.83 ± 2.32	26.50 ± 2.35
20mg/kg群 (n=6)		22.67 ± 3.08	22.83 ± 2.93	23.33 ± 3.27	23.33 ± 3.27
40mg/kg群 (n=6)		22.67 ± 3.39	22.83 ± 3.31	23.00 ± 2.97	23.33 ± 2.94
(日)		28			
対照群 (n=6)		26.83 ± 2.32			
20mg/kg群 (n=6)		24.00 ± 3.15			
40mg/kg群 (n=6)		23.50 ± 2.95			

(平均値±標準偏差; 対照群に対する有意差検定 *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$)

4) 収縮期血圧の測定結果は表 1 4 および図 1 0 に示す通りである。

【表 1 4】

収縮期血圧

(mmHg)

(日)	0	7	14	21
比較区 (n=6)	140.20 ± 4.92	156.70 ± 6.12	173.70 ± 7.87	192.00 ± 3.74
20mg/kg群 (n=6)	139.80 ± 5.34	154.30 ± 4.32	171.00 ± 5.10	186.50 ± 5.05
40mg/kg群 (n=6)	140.70 ± 5.50	154.70 ± 4.23	168.00 ± 6.54	182.50 ± 6.25 *

(日)	28
比較区 (n=6)	205.50 ± 4.04
20mg/kg群 (n=6)	198.30 ± 6.09 *
40mg/kg群 (n=6)	193.80 ± 8.04 **

(平均値±標準偏差; 比較区に対する有意差検定 *:p<0.05; **:p<0.01)

5) 尿中のNO₂/NO₃の測定結果は表 1 5 および図 1 1 に示す通りである。

【表 1 5】

尿中NO₂/NO₃

(μM)

(日)	0	14	28
比較区 (n=6)	5.50 ± 1.87	4.67 ± 1.63	4.00 ± 2.10
20mg/kg群 (n=6)	4.67 ± 1.97	9.83 ± 3.43 *	18.67 ± 4.23 *
40mg/kg群 (n=6)	5.00 ± 1.41	10.67 ± 3.56 **	23.83 ± 4.17 **

(平均値±標準偏差; 比較区に対する有意差検定 *:p<0.05; **:p<0.01)

6) 尿中カテコールアミン (アドレナリン、ノルアドレナリンおよびドーパミン) の測定結果は表 1 6、1 7、1 8 および図 1 2、1 3、1 4 に示す通りである。

【表 1 6】

尿中アドレナリン

(ng/mg; Cr)

(日)	0	14	28
比較区 (n=6)	10.30 ± 1.63	13.50 ± 1.05	16.70 ± 1.21
20mg/kg群 (n=6)	10.50 ± 2.43	13.00 ± 3.22	13.50 ± 2.66 *
40mg/kg群 (n=6)	10.30 ± 2.34	12.20 ± 2.04	13.20 ± 2.32 *

(平均値±標準偏差; 比較区に対する有意差検定 *:p<0.05; **:p<0.01)

【表 1 7】

尿中ノルアドレナリン
(ng/mg; Cr)

(日)	0	14	28
比較区 (n=6)	44.80 ± 3.43	60.00 ± 3.95	76.00 ± 3.03
20mg/kg群 (n=6)	45.20 ± 4.07	57.70 ± 1.03	67.50 ± 3.62 **
40mg/kg群 (n=6)	46.50 ± 3.15	57.30 ± 3.20	63.00 ± 3.16 **

(平均値±標準偏差; 比較区に対する有意差検定 *:p<0.05; **:p<0.01)

【表 1 8】

尿中ドーパミン
(ng/mg; Cr)

(日)	0	14	28
比較区 (n=6)	512.30 ± 5.43	632.80 ± 15.07	707.20 ± 12.35
20mg/kg群 (n=6)	518.70 ± 11.83	561.20 ± 22.79 **	640.70 ± 32.95 **
40mg/kg群 (n=6)	507.30 ± 16.78	545.30 ± 16.29 **	619.00 ± 29.35 **

(平均値±標準偏差; 比較区に対する有意差検定 *:p<0.05; **:p<0.01)

7) 血清総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロールおよびコレステロールエステル比の測定結果は表 1 9 および図 1 5 に示す通りである。

【表 1 9】

血清総コレステロール・HDL-コレステロール・LDL-コレステロール・コレステロールエステル比

	総コレステロール (mg/dL)	HDL-コレステロール (mg/dL)	LDL-コレステロール (mg/dL)	コレステロールエステル比 (%)
比較区 (n=6)	77.78 ± 20.64	40.32 ± 2.69	36.57 ± 2.36	71.17 ± 3.06
20mg/kg群 (n=6)	65.47 ± 3.01	29.20 ± 1.14 **	25.47 ± 2.20 **	69.83 ± 4.83
40mg/kg群 (n=6)	60.58 ± 2.53	26.68 ± 2.28 **	25.45 ± 2.07 **	71.50 ± 4.04

(平均値±標準偏差; 比較区に対する有意差検定 *:p<0.05; **:p<0.01)

8) 血清トリグリセライドおよび遊離脂肪酸の測定結果は表 2 0 および図 1 6、1 7 に示す通りである。

【表 2 0】

血清トリグリセリド・遊離脂肪酸

	トリグリセリド (mg/dL)	遊離脂肪酸 (μ Eq/L)
比較区 (n=6)	102.32 \pm 6.42	351.00 \pm 13.80
20mg/kg群 (n=6)	87.57 \pm 4.52 **	403.50 \pm 16.45 **
40mg/kg群 (n=6)	81.73 \pm 6.22 **	436.17 \pm 9.79 **

(平均値 \pm 標準偏差; 比較区に対する有意差検定 *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$)

5

9) 体内脂肪に関する後腹壁脂肪、腸間膜脂肪、腎周囲脂肪および副睾丸周囲脂肪の測定結果は表 2 1 および図 1 8 に示す通りである。

【表 2 1】

内臓脂肪重量
(g/100g体重)

	後腹壁脂肪	腸間膜脂肪	腎周囲脂肪	副睾丸周囲脂肪
比較区 (n=6)	1.87 \pm 0.16	2.17 \pm 0.43	3.12 \pm 0.41	2.40 \pm 0.25
20mg/kg群 (n=6)	1.58 \pm 0.20 *	1.82 \pm 0.35	2.72 \pm 0.42	1.92 \pm 0.40 *
40mg/kg群 (n=6)	1.53 \pm 0.30 *	1.58 \pm 0.32 *	2.38 \pm 0.20	1.85 \pm 0.27

(平均値 \pm 標準偏差; 比較区に対する有意差検定 *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$)

10

c) 評価

表 1 2 よび図 8 の体重の変化に示すように、試験期間中の SHRS P ラットの体重推移については、比較区と試験区 1、2 とを比較すると、雄性的 SHRS P ラットにおいても雌ラットと同様に体重増加が抑制された。このことは本発明の肥満抑制素材を投与することによって雄ラットにおいても体重の増加が抑制されたといえる。その傾向はイソフラボンアグリコンの用量が多いほど高まった。このことはイソフラボンアグリコンが体内への吸収性が優れていることに他ならない。

20

比較区を正常体重ラットと評価すると、それより低くなることは痩せる傾向と見ることができる。この観点から評価すると試験区 1、2 は共に比較区に比べて体重増加は抑えられていた。更に詳しく説明すると、イソフラボンアグリコンの用量が 20 mg/kg の試験区 1 においては、1 7、1 8、

20～24日目に有意に低い値を示し、結果として5%の体重の増加が抑制され、イソフラボンアグリコンの用量が40 mg/kg の試験区2においては3～24日目に有意に低い値を示し、結果として7%の体重の増加が抑制された。

- 5 表13および図9の摂餌量の変化に示す通り、試験期間中のSHRSPラットの摂餌量推移については、比較区と試験区1、2とを比較すると、有意差は認められなかったがイソフラボンアグリコンを投与した試験区1、2において摂餌量の抑制傾向が認められた。

- 10 表14および図10の収縮期血圧の変化に示す通り、試験期間中のSHRSPラットの収縮期血圧推移については、比較区と試験区1、2とを比較すると、7、14日目には低下は認められなかったが、21、28日目には有意な低下が認められた。更に詳しく説明すると、イソフラボンアグリコンの用量が20 mg/kg の試験区1においては、28日目に有意に低い値を示し、イソフラボンアグリコンの用量が40 mg/kg の試験区2においては21、28日目に有意に低い値を示した。

- 20 表15および図11の尿中の NO_2/NO_3 の変化に示す通り、試験期間中のSHRSPラットの尿中の NO_2/NO_3 の推移については、比較区と試験区1、2とを比較すると、両試験区1、2において共に14、28日目に有意に高い値を示した。これにより、両試験区1、2において投与したイソフラボンアグリコンはエストロゲン様作用を有しているので、eNOS（内皮型NO合成酵素）活性を高めて、NOを産生していることが確認された。

表16、17、18および図12、13、14の尿中カテコールアミン（アドレナリン、ノルアドレナリンおよびドーパミン）の変化に示す通り、

試験期間中のSHRSPラットのアドレナリンおよびノルアドレナリンの推移については、比較区と試験区1、2とを比較すると、両試験区1、2において共に28日目に有意に低い値を示し、ドーパミンについては、両試験区1、2において共に14、28日目に有意に低い値を示した。この
5 ような結果からカテコールアミン（アドレナリン、ノルアドレナリンおよびドーパミン）の有意な低下が認められることにより、血圧低下が図られていることが示唆された。

表19および図15の血清総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロールおよびコレステロールエステル比の変化に示す通り、試験期間中のSHRSPラットのHDL-コレステロールおよびLDL-コレステロールの推移については、比較区と試験区1、2とを比較すると、両試験区1、2において共に有意に低い値を示した。更に、血清中の総コレステロール値は両試験区1、2において共に低下傾向にあり、イソフラボンアグリコンが雄性であっても、血圧調節ばかりでなく脂質の代謝
10 促進などにも影響を及ぼすことがわかった。更に、有意差がない方が健康によいとされるコレステロールエステル比については有意差がなく、イソフラボンアグリコンは健康を良好に維持しながら体重増加や血圧上昇を抑制することができることがわかった。
15

表20および図16、17の血清トリグリセライドおよび遊離脂肪酸の変化に示す通り、試験期間中のSHRSPラットの血清トリグリセライドおよび遊離脂肪酸の推移については、比較区と試験区1、2とを比較すると、両試験区1、2において共に有意に低い値を示した。このように血清中のトリグリセライドが有意に低下することにより、イソフラボンアグリ
20 コンが雄性であっても、血圧調節ばかりでなく脂質の代謝促進などにも影

響を及ぼすことがわかった。更に、血清中の遊離脂肪酸は両試験区 1、2 において共に有意に増加することにより、イソフラボンアグリコンが雄性であっても、血圧調節ばかりでなく脂肪を分解して脂質の代謝促進が有効に行われていることがわかった。

5 表 2 1 および図 1 8 の体内脂肪に関する後腹壁脂肪、腸間膜脂肪、腎周囲脂肪および副睾丸周囲脂肪の変化に示す通り、試験期間中の S H R S P ラットの後腹壁脂肪、腸間膜脂肪、腎周囲脂肪および副睾丸周囲脂肪の推移については、比較区と試験区 1、2 とを比較すると、後腹壁脂肪が両試験区 1、2 において共に有意に低い値を示し、腸間膜脂肪がイソフラボン
10 アグリコンの用量の多い試験区 2 において有意に低い値を示し、副睾丸周囲脂肪がイソフラボンアグリコンの用量の少ない試験区 1 において有意に低い値を示した。このように体内脂肪が有意に低下することにより、イソフラボンアグリコンが雄性であっても、血圧調節ばかりでなく脂質の代謝促進などにも影響を及ぼすことがわかった。

15 また、実施例 1、2 および 3 において、胃ゾンデを用いて投与物を強制経口投与して良好な結果を得ることができているので、本発明の肥満抑制素材を経口補助剤状、例えば容易に経口できるカプセル状、錠剤状、顆粒状、粉末状等に形成して、経口摂取を容易とするとともに、消化器官によって確実に吸収させて、前述した優れた効果を発揮させることができる。

20 なお、本発明は前記実施の形態並びに実施例に限定されるものではなく、必要に応じて変更することができる。本発明の肥満抑制素材は前記実施例のように経口投与の他に点滴によって体内に吸収させるようにしてもよい。

請 求 の 範 囲

1) イソフラボンアグリコンおよび／またはイソフラボングリコシドを有することを特徴とする肥満抑制素材。

5

2) イソフラボンアグリコンおよびイソフラボングリコシドは穀類由来の素材であることを特徴とする請求項 1 に記載の肥満抑制素材。

3) 穀類由来の素材は、穀類を麹菌によって発酵させて蛋白質を分解し、その後に加水分解することにより生成されていることを特徴とする請求項 2 に記載の肥満抑制素材。

10

4) 穀類は豆類であることを特徴とする請求項 3 に記載の肥満抑制素材。

15

5) イソフラボンアグリコンは加水分解することにより生成された素材を更に濃縮することにより生成されていることを特徴とする請求項 3 または請求項 4 に記載の肥満抑制素材。

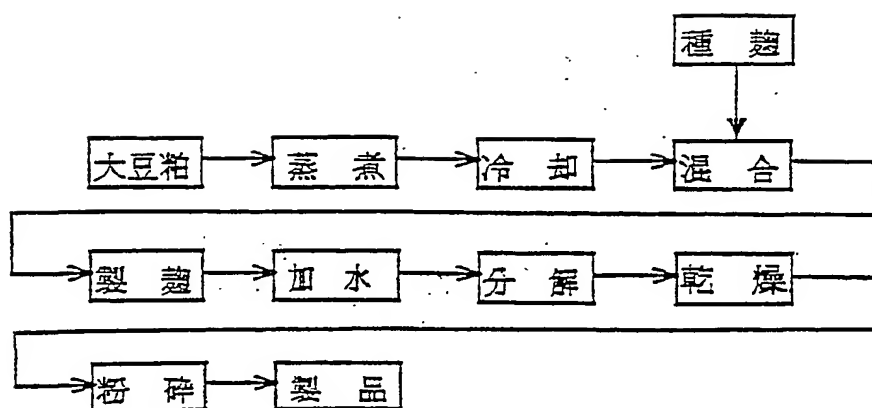
20

6) イソフラボンアグリコンは、少なくとも 70 重量%のダイゼインを含有することを特徴とする請求項 5 に記載の肥満抑制素材。

7) 肥満抑制素材は経口補助剤状に形成されていることを特徴とする請求項 1 から請求項 6 のいずれか 1 項に記載の肥満抑制素材。

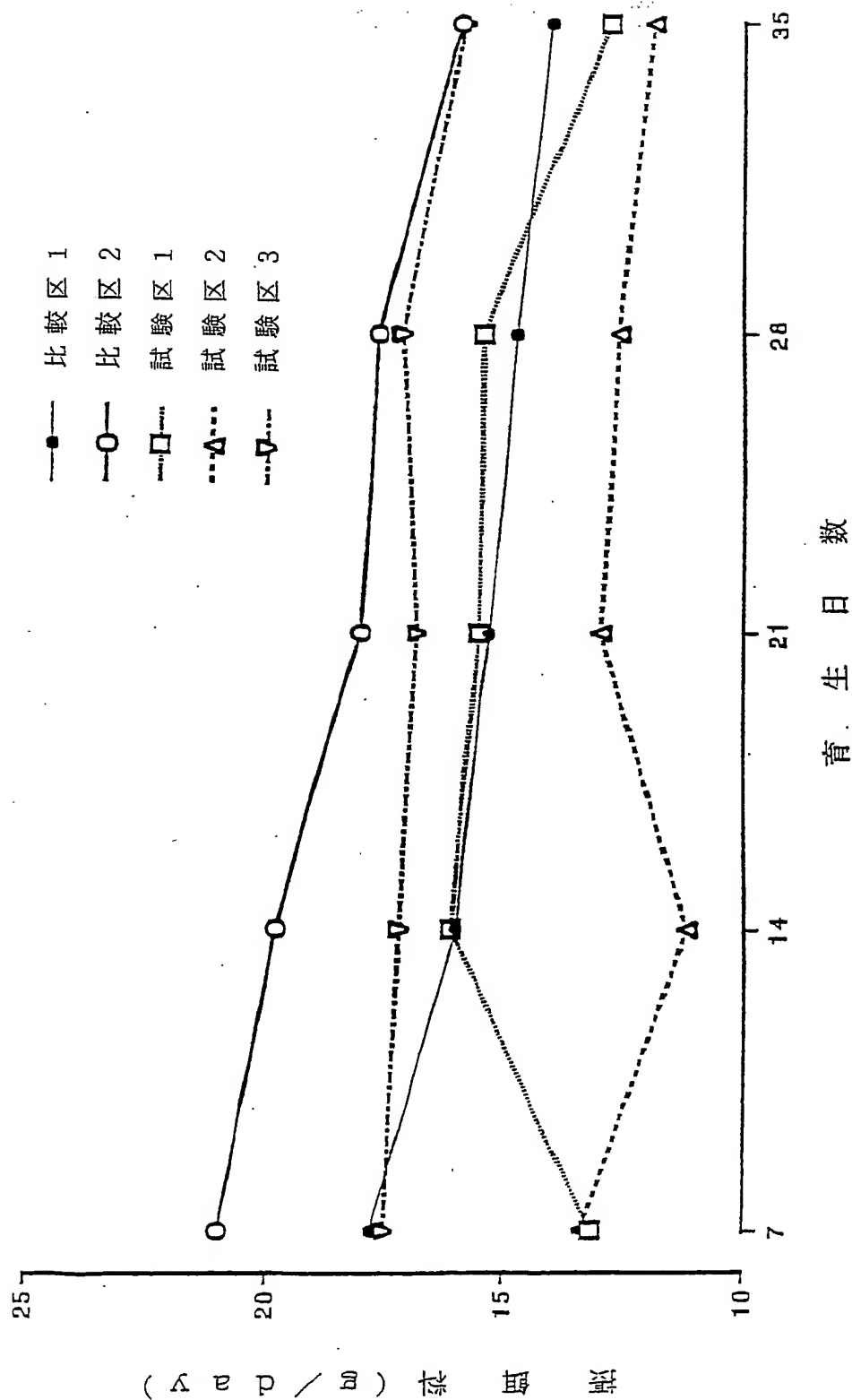
THIS PAGE BLANK (USPTO)

F i g . 1



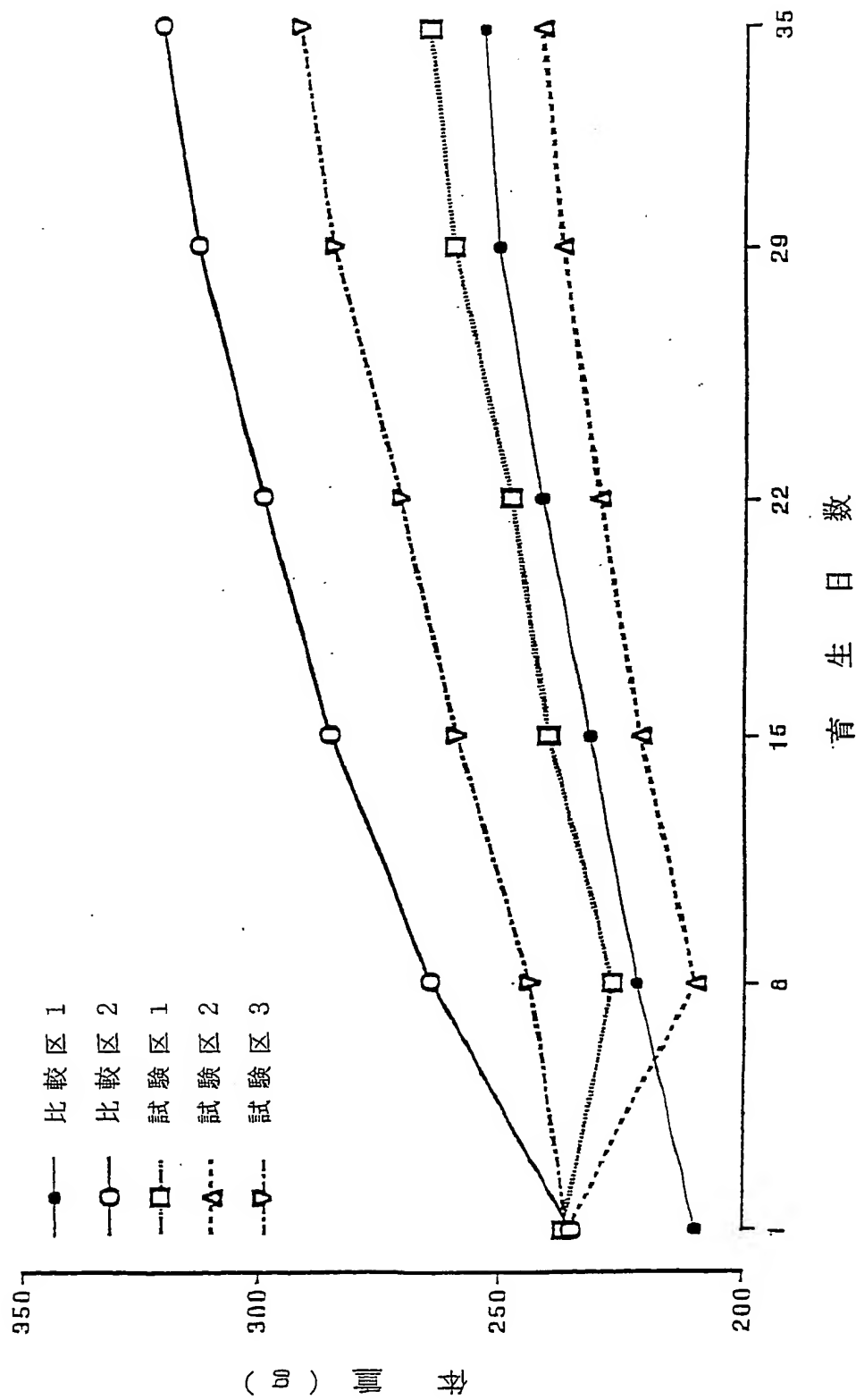
THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 2



THIS PAGE BLANK (USPTO)

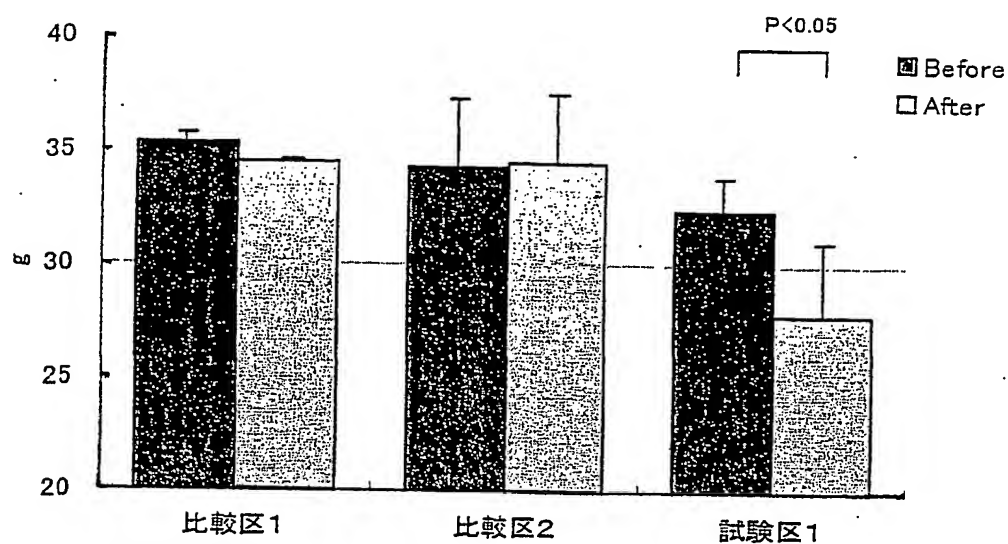
Fig. 3



THIS PAGE BLANK (USPTO)

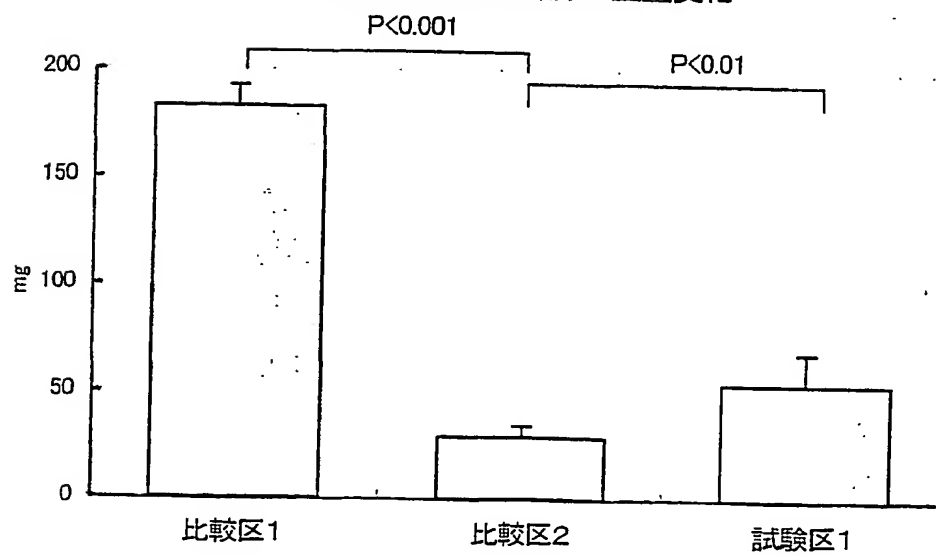
F i g . 4

放射線照射前及び骨髄移植後の体重変化



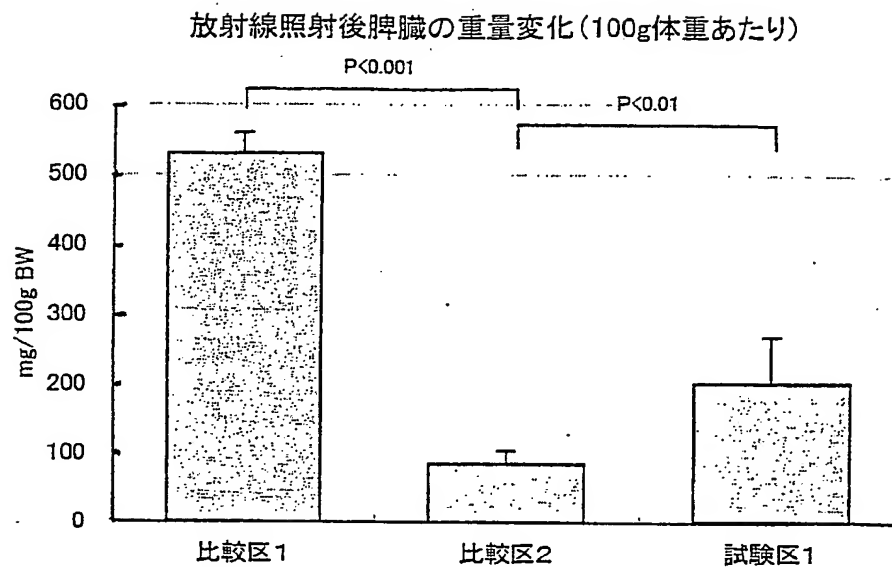
F i g . 5

放射線照射後脾臓の重量変化



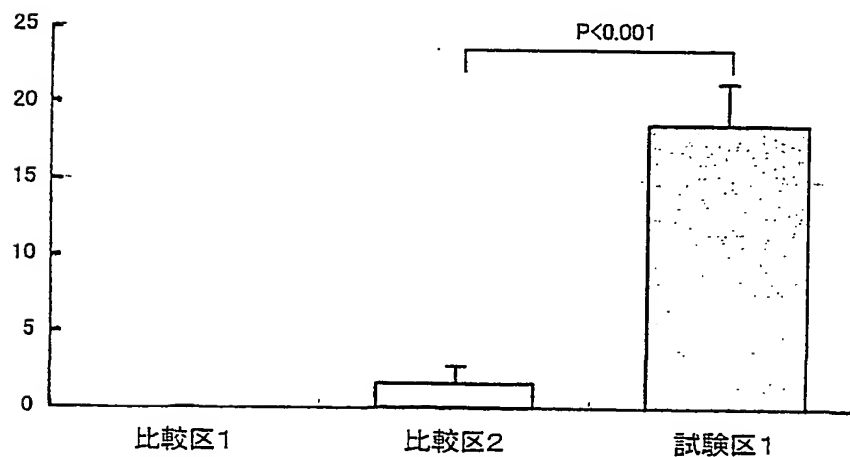
THIS PAGE BLANK (USPTO)

F i g . 6



F i g . 7

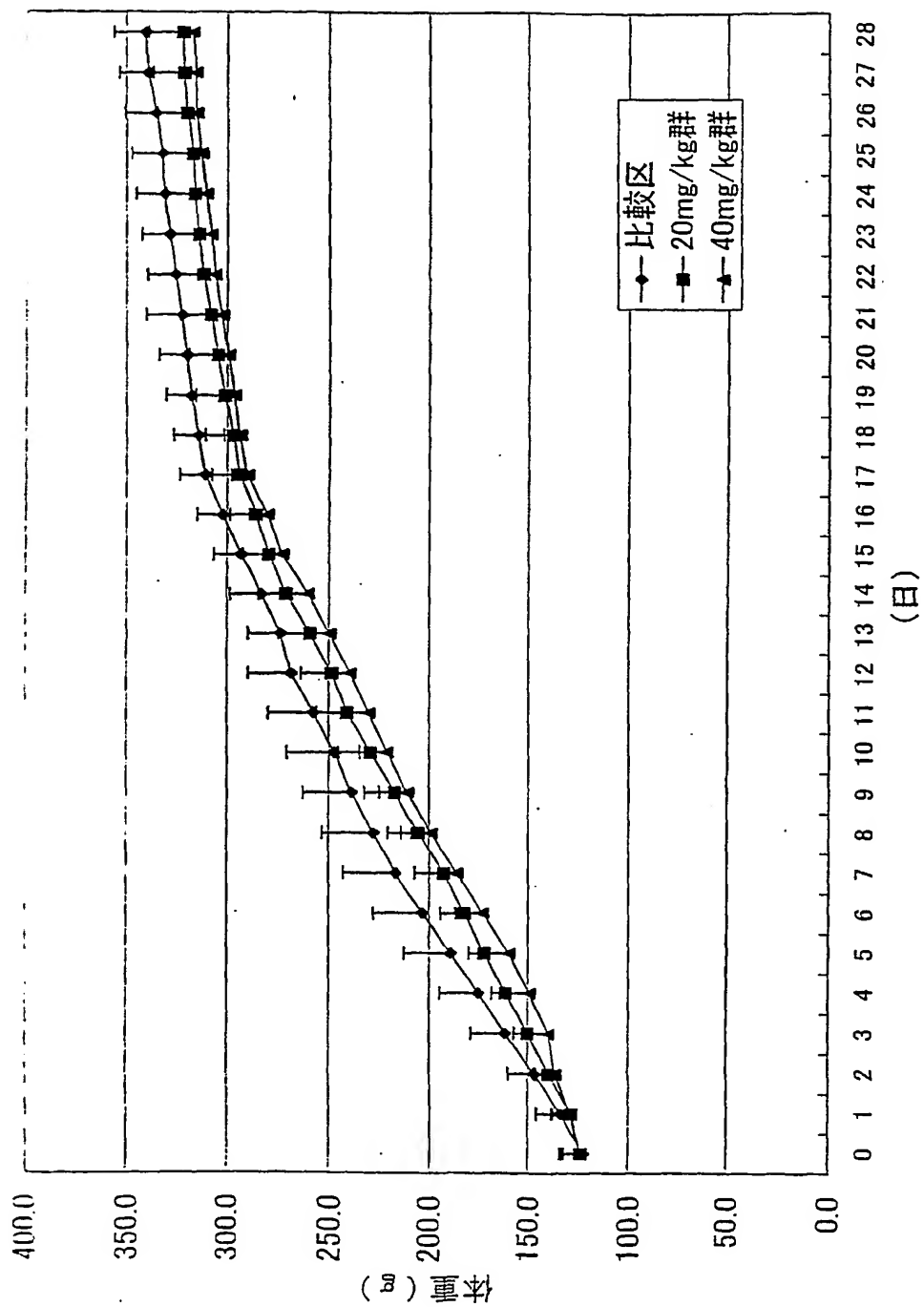
放射線照射、骨髓移植後脾臓コロニー形成数



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 8

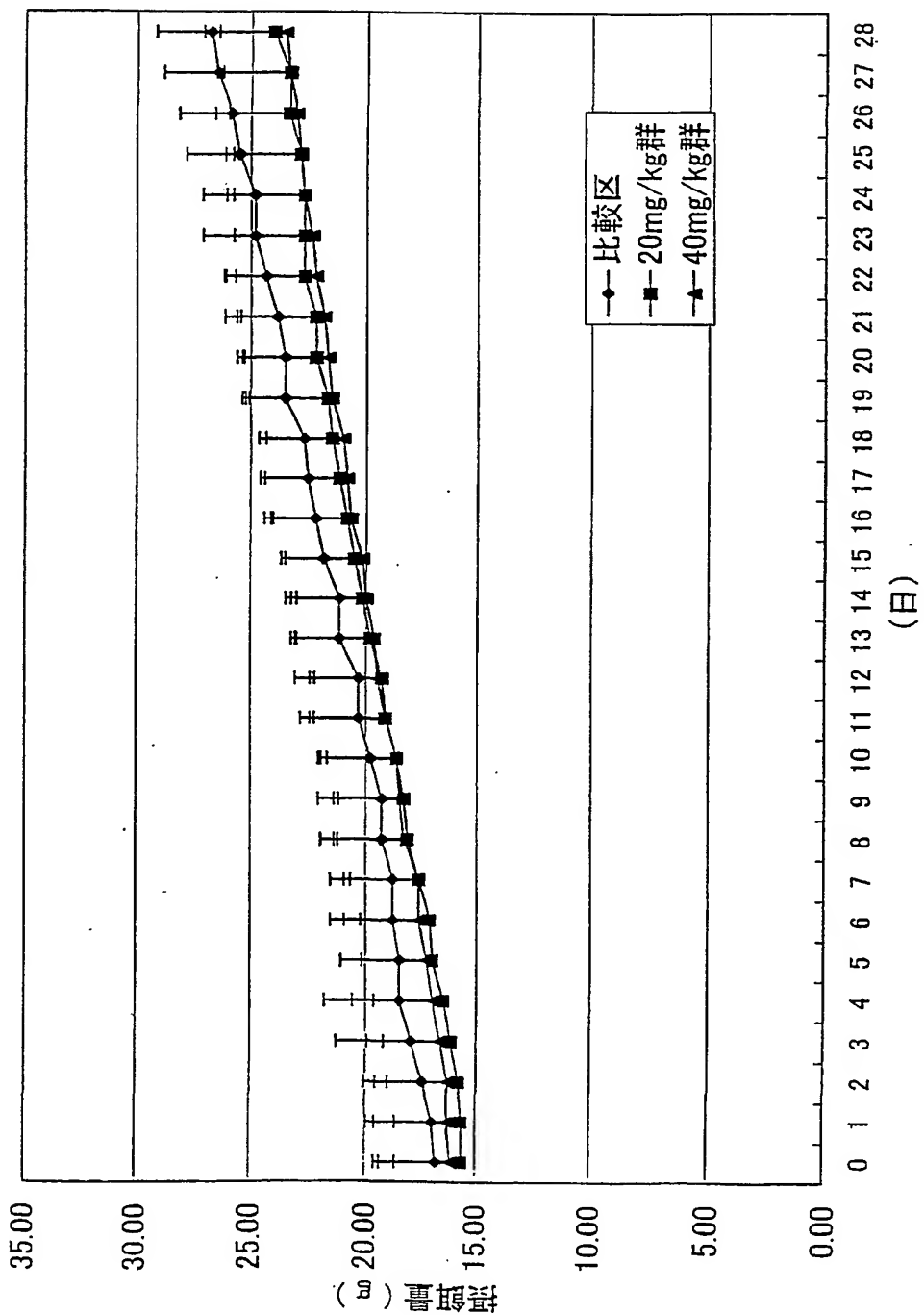
体重の推移



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 9

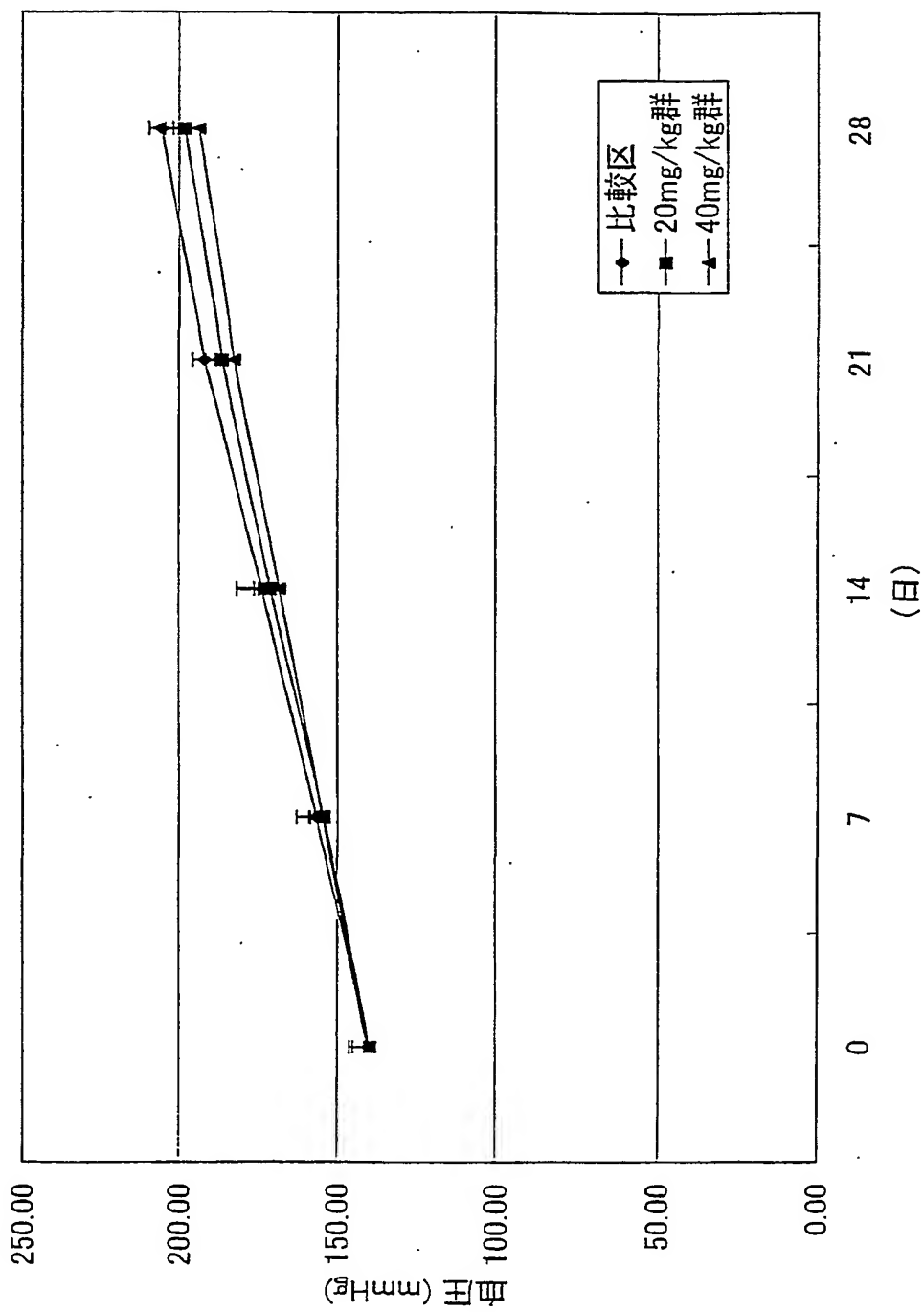
摂餌量の推移



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 10

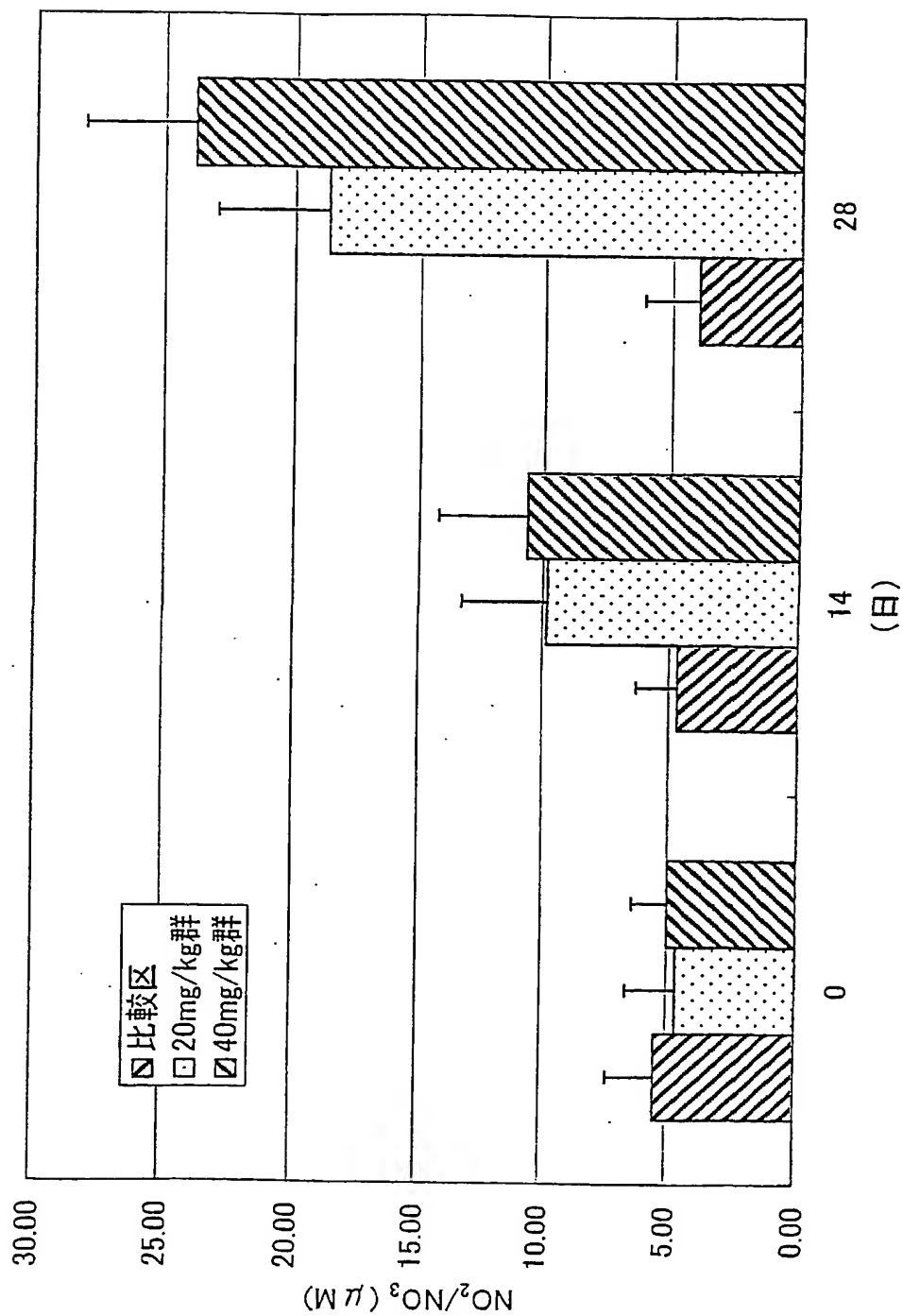
収縮期血圧



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 11

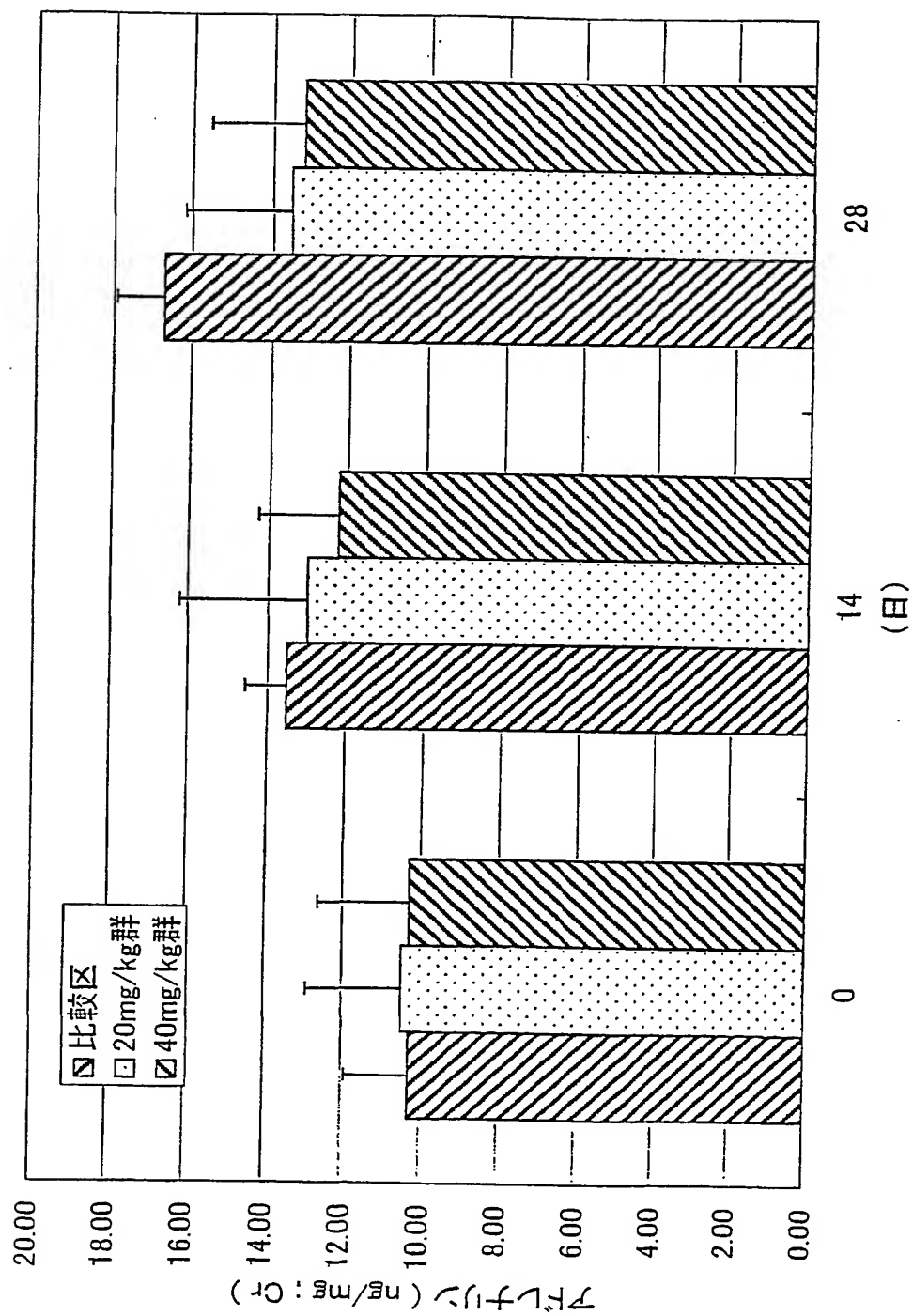
尿中NO₂/NO₃



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 12

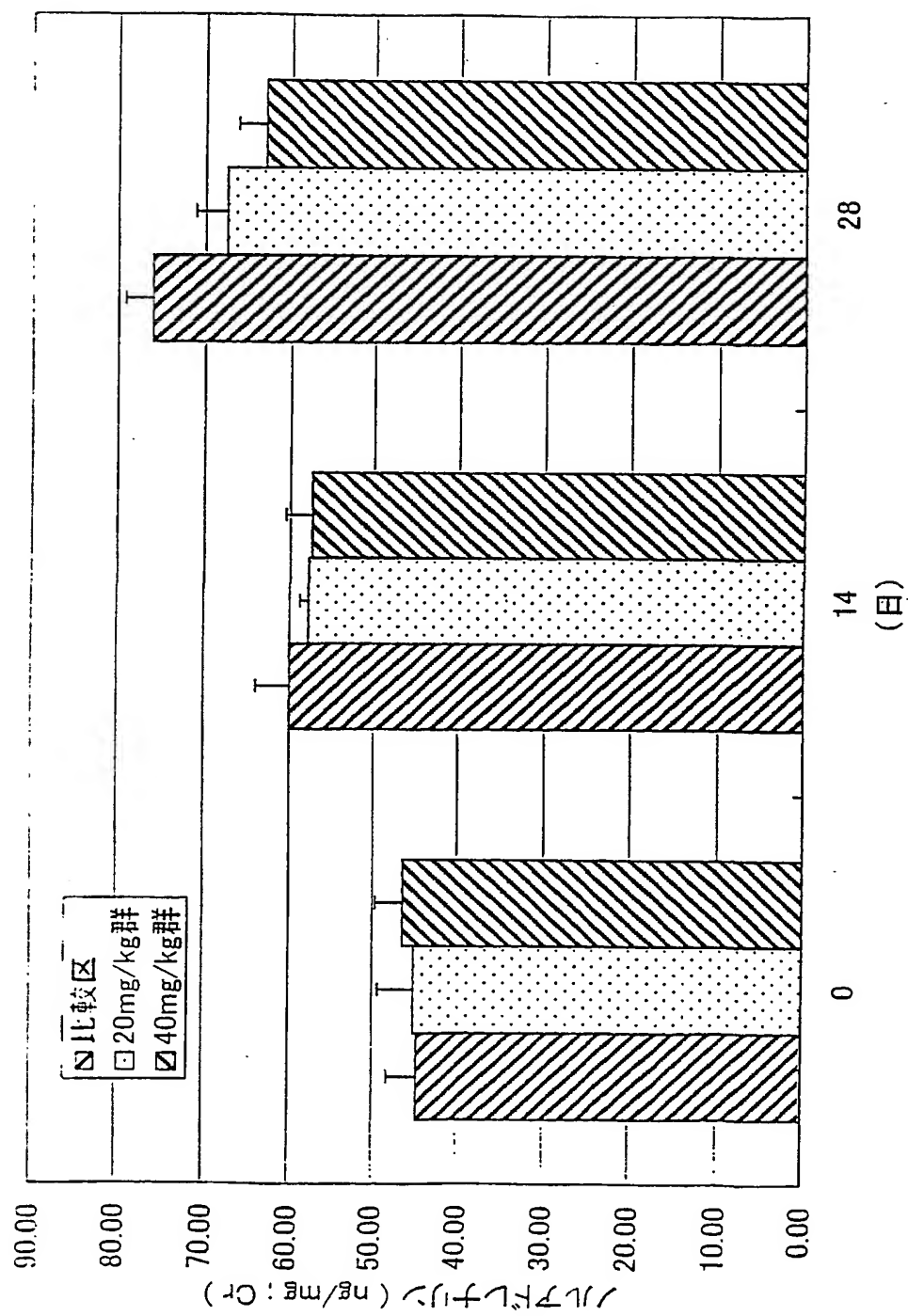
尿中アドレナリン



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 13

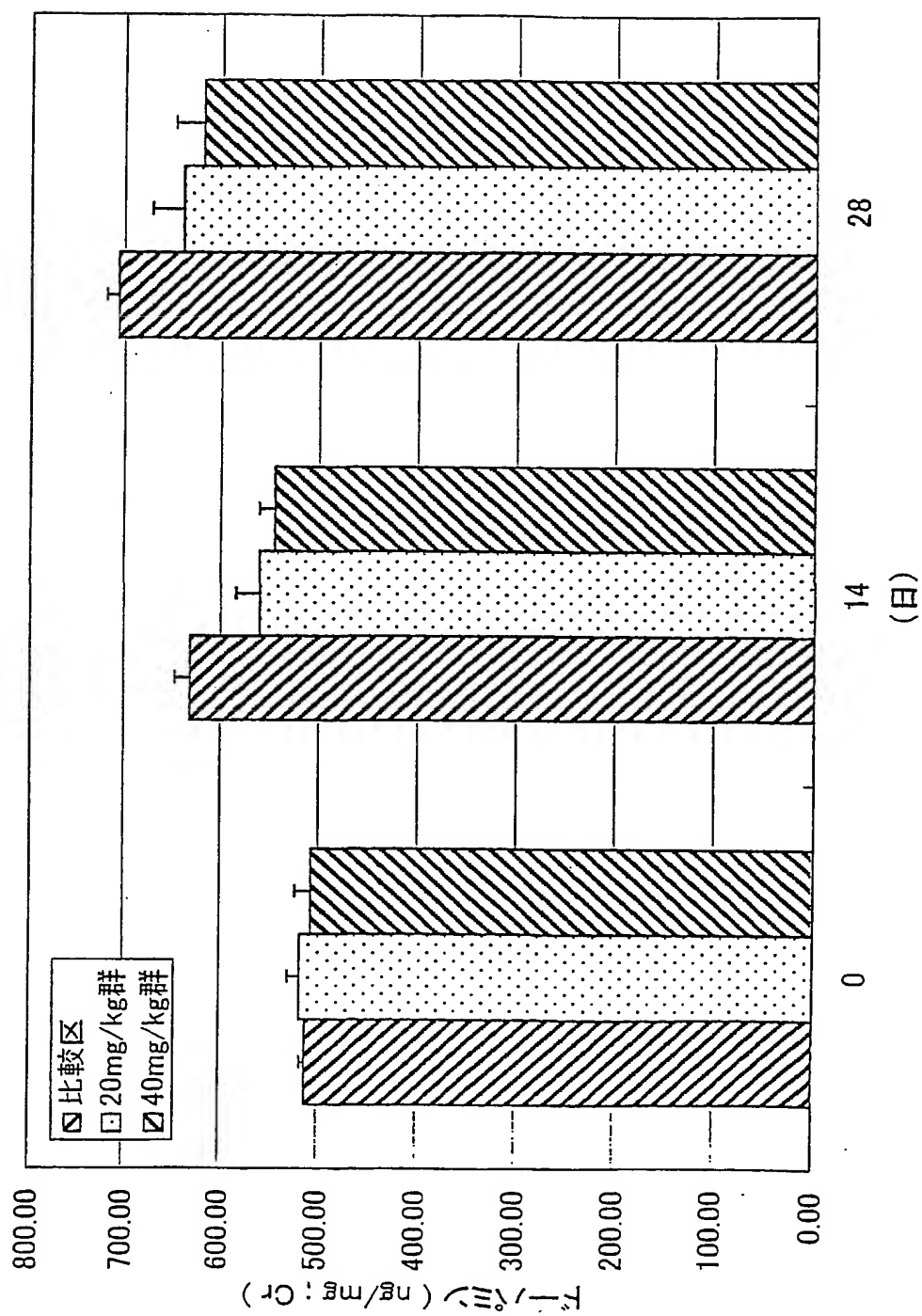
尿中ノルアドレナリン



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 14

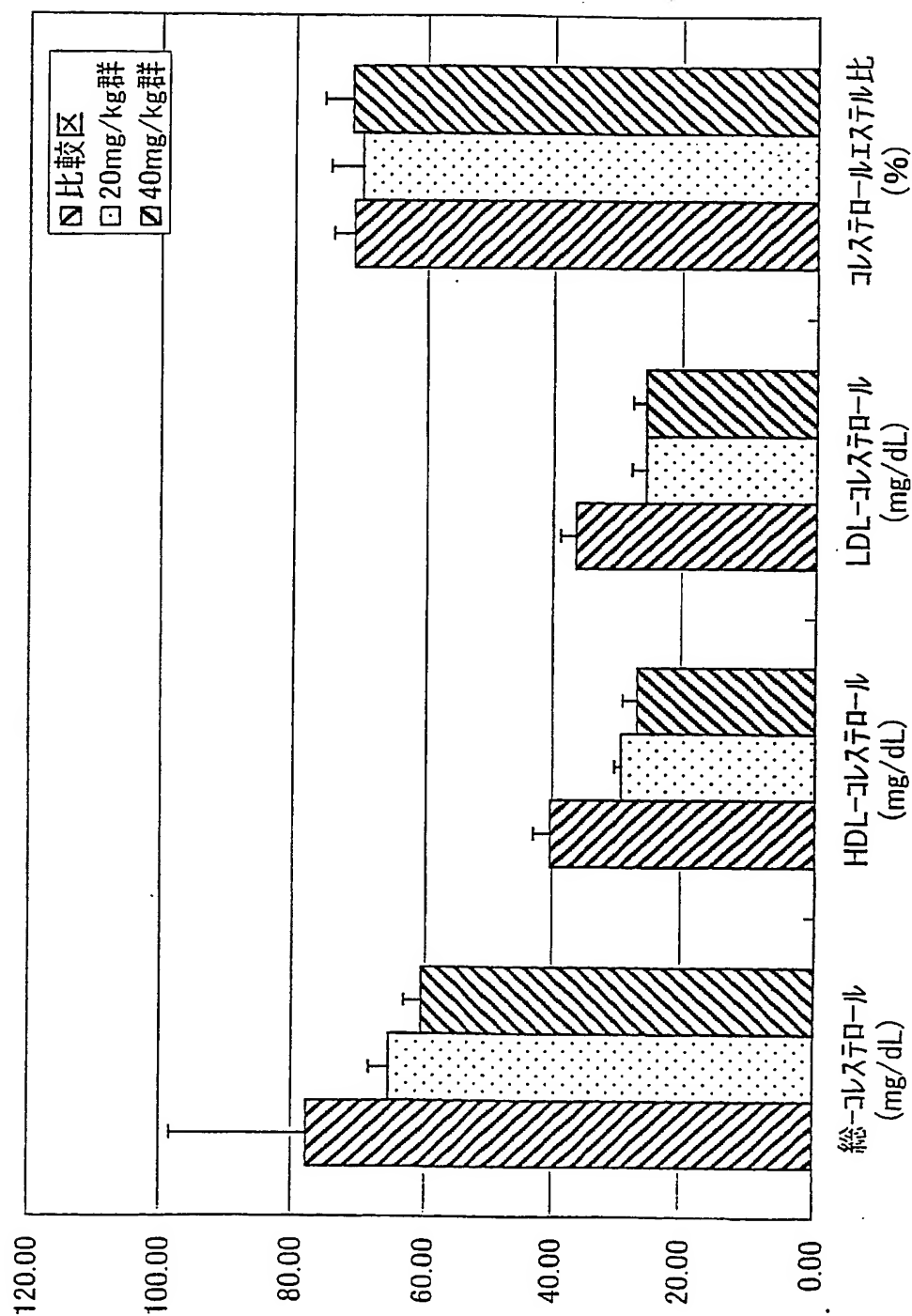
尿中ドーパミン



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 15

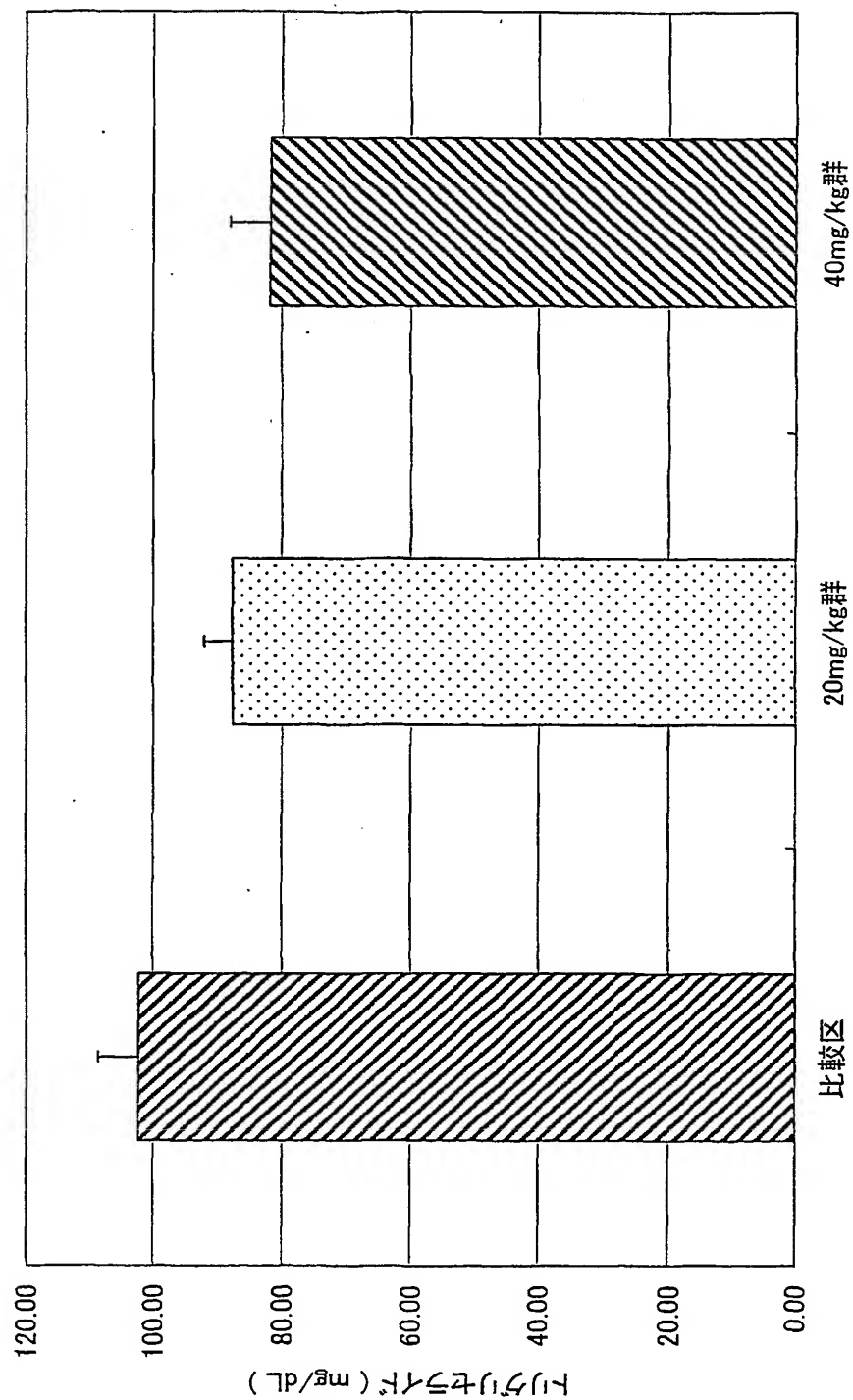
血清コレステロール



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 16

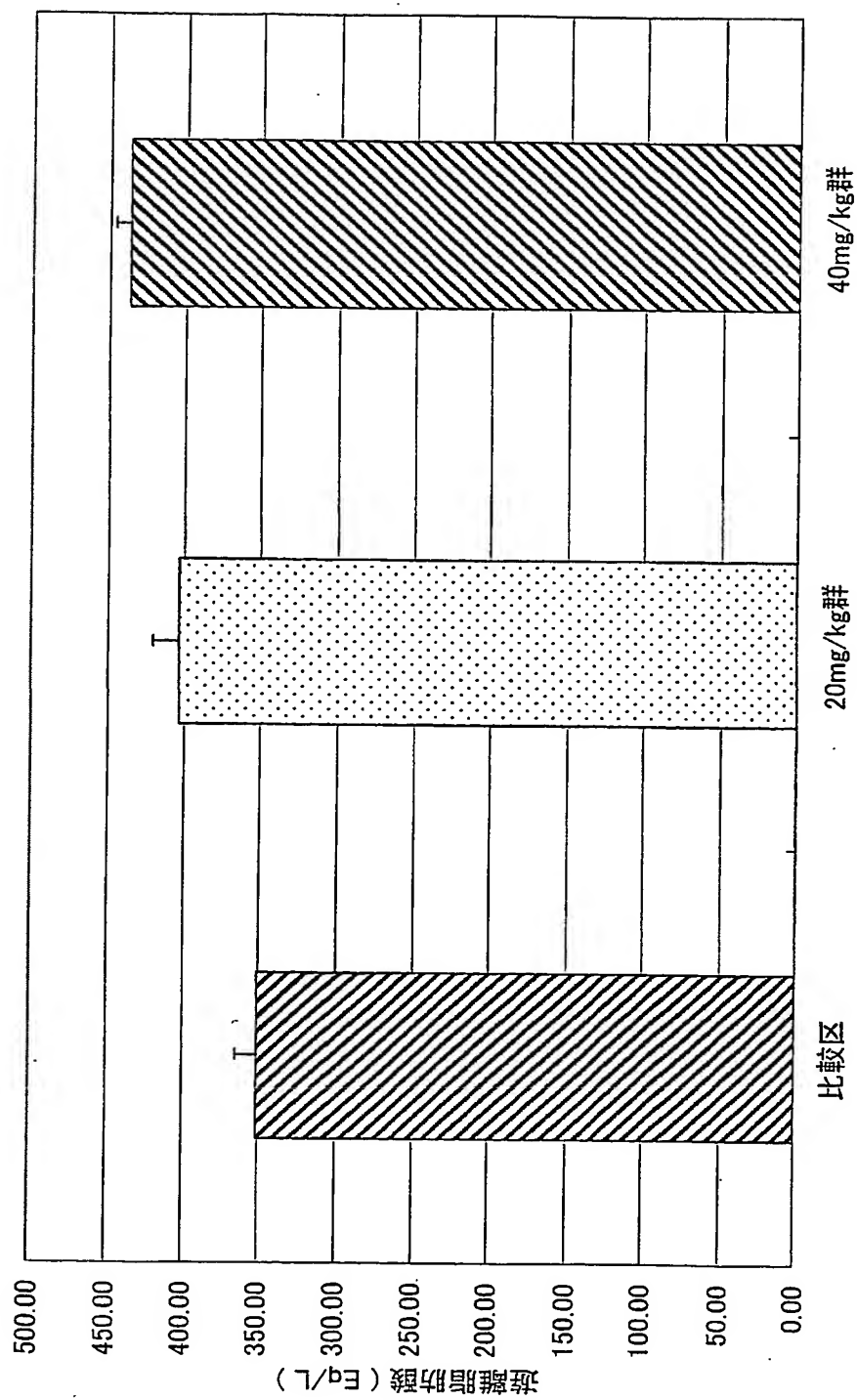
血清トリグリセライド



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 17

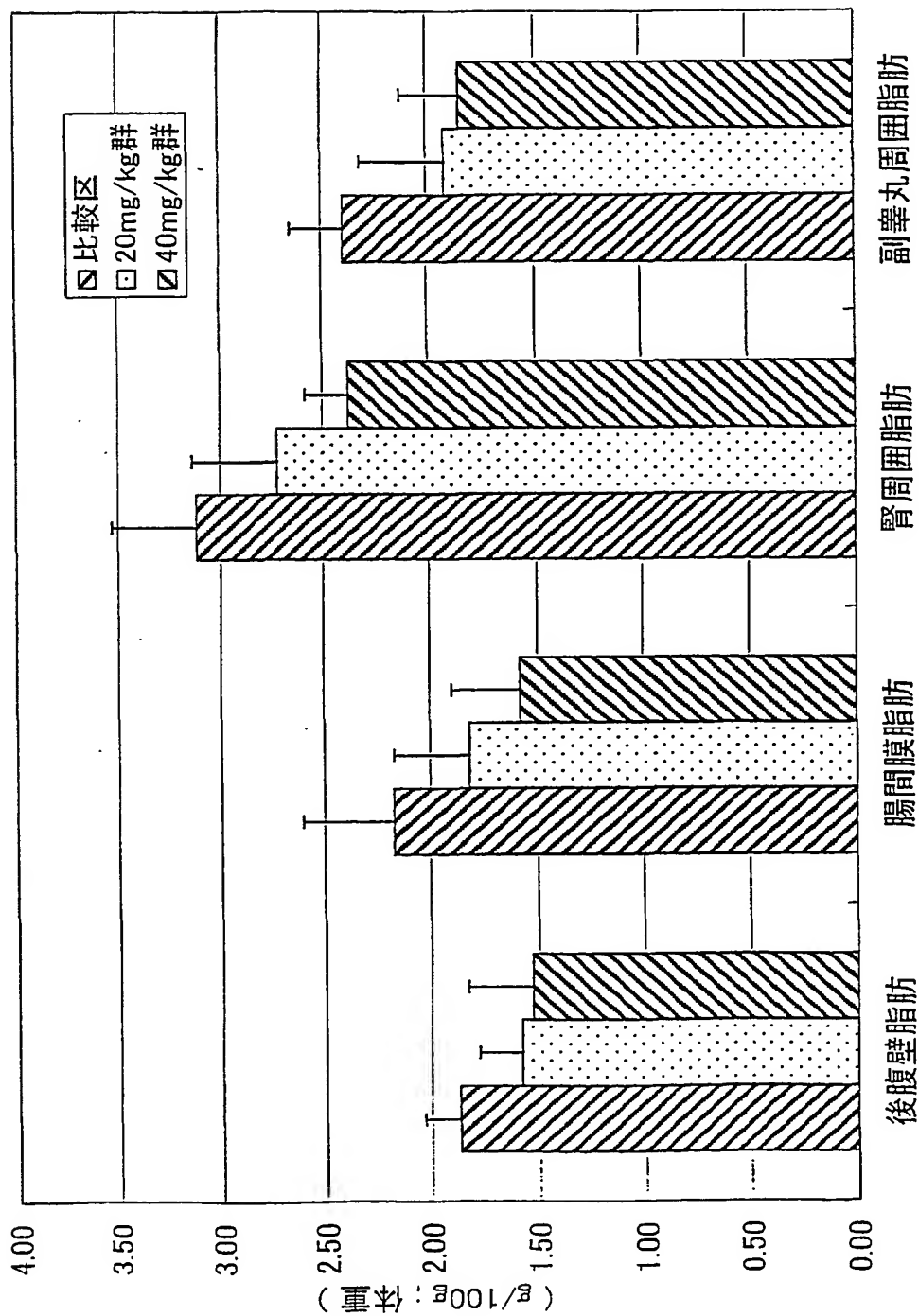
血清遊離脂肪酸



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 18

内臓脂肪



THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/05944

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07D311/36, A61K31/352, A61K35/78, A61P3/04, A23L1/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07D311/36, A61K31/352, A61K35/78, A61P3/04, A23L1/30

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 11-228430 A (Asahi Breweries, Ltd.), 24 August, 1999 (24.08.99), Full text (Family: none)	1, 2 3-7
X Y	EP 829261 A2 (Director General of Shikoku National Agricultural Experiment Station, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries), 18 March, 1998 (18.03.98), Full text & JP 10-87486 A Full text & US 5776906 A	1, 2, 7 3-6
X A	JP 8-134091 A (Sankyo Company, Limited), 28 May, 1996 (28.05.96), Full text (Family: none)	1, 7 2-6
Y	JP 11-243928 A (Nichimo Co., Ltd.), 14 September, 1999 (14.09.99), Full text (Family: none)	1-7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* "A"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier document but published on or after the international filing date	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"	document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search
29 August, 2001 (29.08.01)Date of mailing of the international search report
25 September, 2001 (25.09.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/05944

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
EY	JP 2000-281673 A (Nichimo Co., Ltd.), 10 October, 2000 (10.10.00), Full text (Family: none)	1-7

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ C07D311/36, A61K31/352, A61K35/78, A61P3/04,
A23L1/30

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料以外の分野の分類 (IPC)

Int. Cl.⁷ C07D311/36, A61K31/352, A61K35/78, A61P3/04,
A23L1/30

最小限資料以外の資料が属する分野に含まれるもの

国際調査で使用するデータベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CA (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	JP 11-228130 A (アサヒビール株式会社) 24. 8月. 1999 (24. 08. 99), 全文 (ファミリーなし)	1, 2 3-7
X Y	EP 829261 A2 (Director General of Shikoku National Agricultural Experiment Station, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries) 18. 3月. 1998 (18. 03. 98), 全文 & JP 10-57186 A, 全文 & US 5776906 A	1, 2, 7 3-6
X A	JP 8-13194 A (三共株式会社) 28. 5月. 1996 (28. 05. 96), 全文 (ファミリーなし)	1, 7 2-6

☒ C欄の続きにも文献が記されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出版または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

29. 08. 01

国際調査報告の発送日

25.09.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内田 淳子

4P

2939

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 11-243928 A (ニチモウ株式会社) 14. 9月. 1999 (14. 09. 99), 全文 (ファミリーなし)	1 - 7
E Y	JP 2000-281673 A (ニチモウ株式会社) 10. 10月. 2000 (10. 10. 00), 全文 (ファミリーなし)	1 - 7